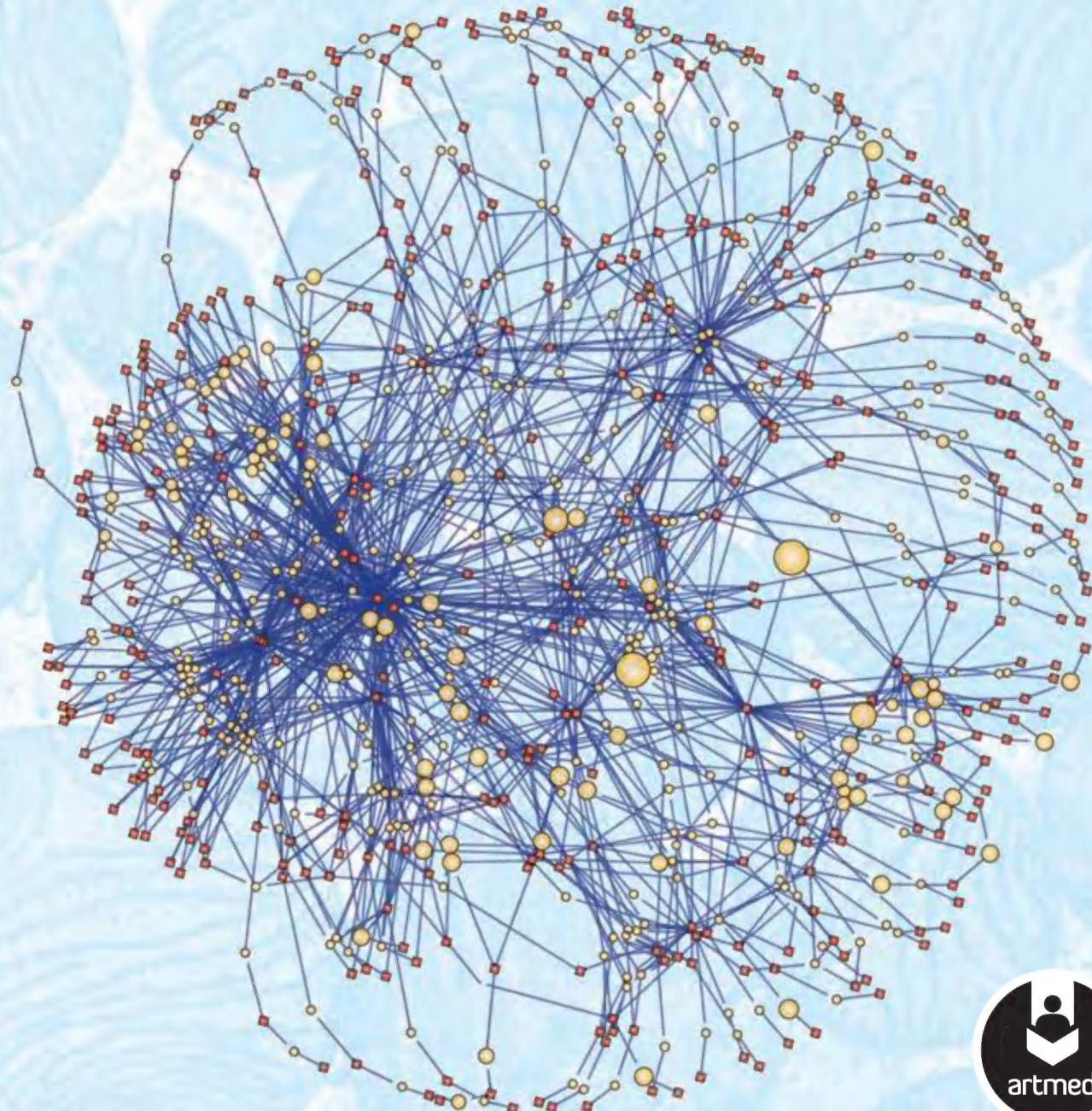


Princípios de Bioquímica de Lehninger

David L. Nelson | Michael M. Cox



Carboidratos e Glicobiologia

7.1 Monossacarídeos e dissacarídeos 243

7.2 Polissacarídeos 253

7.3 Glicoconjugados: proteoglicanos, glicoproteínas e glicoesfingolipídeos 263

7.4 Carboidratos como moléculas informativas: o código dos açúcares 269

7.5 Trabalhando com carboidratos 274

Os carboidratos são as biomoléculas mais abundantes na Terra. A cada ano, a fotossíntese converte mais de 100 bilhões de toneladas métricas de CO_2 e H_2O em celulose e outros produtos vegetais. Alguns carboidratos (açúcar e amido) são os principais elementos da dieta em muitas partes do mundo, e sua oxidação é a principal via de produção de energia na maioria das células não fotossintéticas. Polímeros de carboidratos (também chamados de glicanos) agem como elementos estruturais e protetores nas paredes celulares bacterianas e vegetais e também nos tecidos conectivos animais. Outros polímeros de carboidratos lubrificam as articulações e auxiliam o reconhecimento e a adesão intercelular. Polímeros de carboidratos complexos covalentemente ligados a proteínas ou lipídios atuam como sinal que determinam a localização intracelular ou o destino metabólico dessas moléculas híbridas, chamadas de **glicoconjugados**. Este capítulo introduz as principais classes de carboidratos e glicoconjugados e traz alguns exemplos de seus muitos papéis estruturais e funcionais.

Carboidratos são poli-hidroxialdeídos ou poli-hidroxicetonas, ou substâncias que geram esses compostos quando hidrolisadas. Muitos carboidratos têm a fórmula empírica $(\text{CH}_2\text{O})_n$; alguns também contêm nitrogênio, fósforo ou enxofre.

Existem três classes principais de carboidratos: monossacarídeos, dissacarídeos e polissacarídeos (a palavra “sacarídeo” é derivada do grego *sakharon*, que significa “açúcar”). Os **monossacarídeos**, ou açúcares simples, são constituídos por uma única unidade poli-hidroxicetona ou poli-hidroxialdeído. O monossacarídeo mais abundante na natureza é o açúcar de 6 carbonos D-glicose, algumas vezes chamado de dextrose. Monossacarídeos de quatro ou mais carbonos tendem a formar estruturas cílicas.

Os **oligossacarídeos** consistem em cadeias curtas de unidades de monossacarídeos, ou resíduos, unidas por ligações características chamadas de ligações glicosídicas. Os mais abundantes são os **dissacarídeos**, com duas unidades de monossacarídeos. Um dissacarídeo típico é a sacarose (açúcar de cana), constituído pelos açúcares de seis carbonos D-glicose e D-frutose. Todos os monossacarídeos e dissacarídeos comuns têm nomes terminados com o sufixo “-ose”. Em células, a maioria dos oligossacarídeos constituídos por três ou mais unidades não ocorre como moléculas livres, mas sim ligada a moléculas que não são açúcares (lipídios ou proteínas), formando glicoconjugados.

Os **polissacarídeos** são polímeros de açúcar que contêm mais de 20 unidades de monossacarídeo; alguns têm centenas ou milhares de unidades. Alguns polissacarídeos, como a celulose, têm cadeias lineares; outros, como o glicogênio, são ramificados. Ambos são formados por unidades repetidas de D-glicose, mas diferem no tipo de ligação glicosídica e, em consequência, têm propriedades e funções biológicas notavelmente diferentes.

7.1 Monossacarídeos e dissacarídeos

Os mais simples dos carboidratos, os monossacarídeos, são aldeídos ou cetonas com dois ou mais grupos hidroxila; os monossacarídeos de seis carbonos, glicose e frutose, têm cinco grupos hidroxila. Muitos dos átomos de carbono aos quais os grupos hidroxila estão ligados são centros quirais, o que origina os muitos estereoisômeros de açúcares encontrados na natureza. Esse estereoisomerismo é biologicamente importante porque as enzimas que agem sobre os açúcares são absolutamente estereoespecíficas, normalmente preferindo um estereoisômero a outro por três ou mais ordens de magnitude, como demonstrado pelos seus valores de K_m ou constantes de ligação. É tão difícil encaixar o estereoisômero errado dentro do sítio de ligação de uma enzima quanto é difícil colocar a sua luva esquerda na sua mão direita.

Inicialmente são descritas as famílias de monossacarídeos com esqueletos de três a sete carbonos – suas estruturas, as formas estereoisoméricas e os meios para representar as estruturas tridimensionais no papel. Depois são discutidas algumas reações químicas dos grupos carbonil de monossacarídeos. Uma dessas reações, a adição de um grupo hidro-

xila que é parte da mesma molécula, gera formas cílicas com esqueletos de quatro ou mais carbonos (as formas que predominam em solução aquosa). O fechamento desse anel cria um novo centro quiral, adicionando ainda mais complexidade a essa classe de compostos. A nomenclatura para especificar sem ambiguidades a configuração de cada átomo de carbono em uma forma cílica e os meios para representar essas estruturas no papel são, portanto, descritos com alguns detalhes; essas informações serão úteis quando for discutido o metabolismo dos monossacarídeos na Parte II deste livro. São apresentados também alguns importantes derivados de monossacarídeos encontrados em capítulos posteriores.

As duas famílias de monossacarídeos são aldoses e cetonas

Os monossacarídeos são sólidos cristalinos e incolores plenamente solúveis em água, mas insolúveis em solventes apolares. A maioria tem sabor adocicado (ver Quadro 7-2, p. 254). Os esqueletos dos monossacarídeos comuns são compostos por cadeias de carbono não ramificadas, nas quais todos os átomos de carbono estão unidos por ligações simples. Nessa forma de cadeia aberta, um dos átomos de carbono está ligado duplamente a um átomo de oxigênio, formando um grupo carbonil; os outros átomos de carbono estão ligados, cada um, a um grupo hidroxila. Quando o grupo carbonil está na extremidade da cadeia de carbonos (isto é, em um grupo aldeído), o monossacarídeo é uma **aldose**; quando o grupo carbonil está em qualquer outra posição (em um grupo cetona), o monossacarídeo é uma **cetose**. Os monossacarídeos mais simples são as duas trioses de três carbonos: gliceraldeídos (aldotrioses) e di-hidroxiacetonas (cetotrioses, ver **Figura 7-1a**).

Monossacarídeos com quatro, cinco, seis e sete átomos de carbono no esqueleto são chamados, respectivamente, de tetroses, pentoses, hexoses e heptoses. Existem aldoses e cetonas para cada um desses comprimentos de cadeia: aldotetroses e cetotetroses, aldopentoses e cetopentoses, e assim por diante. As hexoses, que incluem a aldo-hexose

D-glicose e a ceto-hexose D-frutose (Figura 7-1b), são os monossacarídeos mais comuns na natureza – os produtos da fotossíntese e os intermediários-chave das sequências de reações produtoras de energia centrais da maioria dos organismos. As aldopentoses D-ribose e 2-desóxi-D-ribose (Figura 7-1c) são componentes dos nucleotídeos e dos ácidos nucleicos (Capítulo 8).

Monossacarídeos têm centros assimétricos

Todos os monossacarídeos, com exceção da di-hidroxiacetaona, contêm um ou mais átomos de carbono assimétricos (quirais) e, portanto, ocorrem em formas isoméricas ópticamente ativas (p. 17-18). A aldose mais simples, o gliceraldeído, contém um centro quiral (o átomo de carbono central) e assim tem dois isômeros ópticos diferentes, ou **enantiômeros** (Figura 7-2).

CONVENÇÃO-CHAVE: Um dos dois enantiômeros do gliceraldeído é, por convenção, designado isômero D, e o outro é isômero L. Assim como para outras biomoléculas com centros quirais, as configurações absolutas dos açúcares são conhecidas a partir de cristalografia por raios X. Para representar estruturas tridimensionais de açúcares no papel, em geral são utilizadas as **fórmulas de projeção de Fischer** (Figura 7-2). Nas fórmulas de projeção de Fischer, as ligações horizontais se projetam para fora do plano do papel, em direção ao leitor; as ligações verticais se projetam para trás do plano do papel, distanciando-se do leitor. ■

Geralmente, uma molécula com n centros quirais pode ter 2^n estereoisômeros. O gliceraldeído tem $2^1 = 2$; as aldohexoses, com quatro centros quirais, têm $2^4 = 16$. Para cada um dos comprimentos de cadeia carbônica, os estereoisômeros dos monossacarídeos podem ser divididos em dois grupos, os quais diferem quanto à configuração do centro quiral *mais distante* do carbono do carbonil. Aquelas nos quais a configuração desse carbono de referência é a mesma daquela do D-gliceraldeído são designados isômeros D, e aqueles com a mesma configuração do L-gliceraldeído são isômeros L. Em outras palavras, quando o grupo

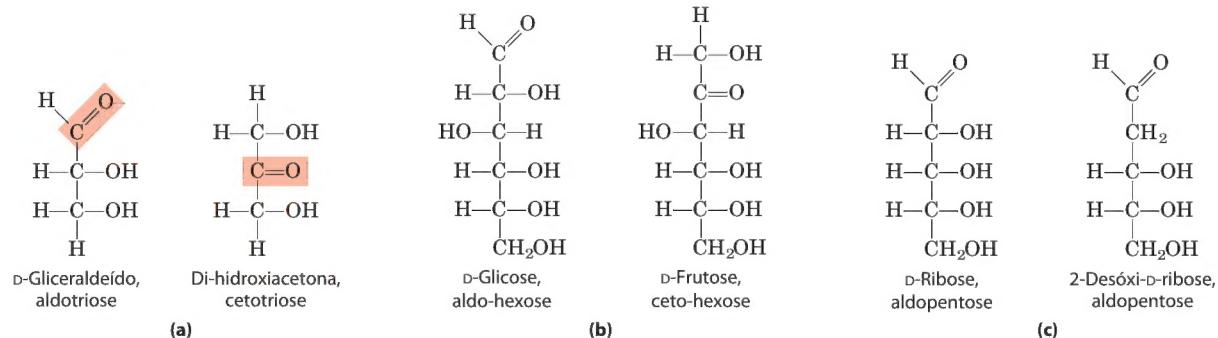
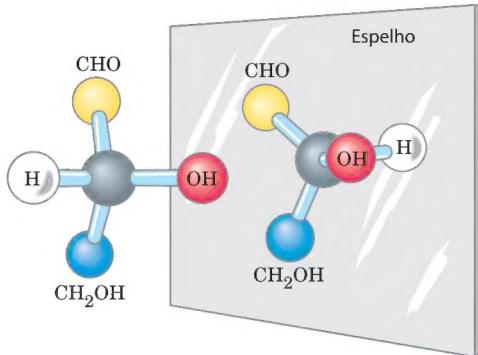
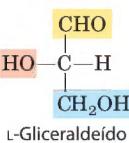
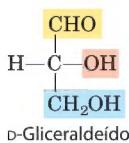


FIGURA 7-1 Monossacarídeos representativos. (a) Duas trioses, uma aldose e uma cetose. O grupo carbonil em cada molécula está sombreado. (b) Duas hexoses comuns. (c) As pentoses componentes de áci-

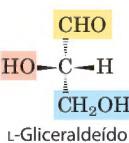
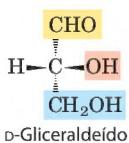
dos nucleicos. A D-ribose é um componente do ácido ribonucleico (RNA) e a 2-desóxi-D-ribose é um componente do ácido desoxirribonucleico (DNA).



Modelos em esfera e bastão



Fórmulas de projeção de Fischer



Fórmulas em perspectiva

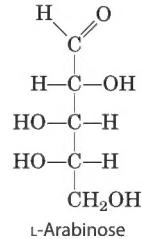
FIGURA 7-2 Três maneiras para representar os dois enantiômeros do gliceraldeído. Os enantiômeros são imagens especulares um do outro. Modelos de esfera e bastão mostram a verdadeira configuração das moléculas. Lembre-se de que, nas fórmulas em perspectiva, a extremidade larga da cunha sólida projeta-se para fora do plano do papel, em direção ao leitor; na cunha descontínua, ela se estende para trás (ver Figura 1-18).

hidroxila do carbono de referência está à direita (*dextro*) em uma fórmula de projeção que apresenta o carbono do carbonil no topo, o açúcar é o isômero D; quando está à esquerda (*levo*), é o isômero L. Das 16 aldo-hexoses possíveis, oito estão na forma D e oito na forma L. Em sua maioria as hexoses dos organismos vivos são isômeros D. Por que isômeros D? Uma questão interessante, e sem resposta. Lembre que todos os aminoácidos encontrados nas proteínas são exclusivamente um dos dois isômeros possíveis, L. A base para essa preferência inicial por um dos isômeros durante a evolução também é desconhecida; entretanto, uma vez que um isômero tenha sido selecionado, é provável que as enzimas em evolução retenham a preferência por aquele estereoisômero (p. 78).

A **Figura 7-3** apresenta as estruturas dos estereoisômeros D de todas as aldoses e cetoses que têm de três a seis átomos de carbono. Os carbonos de um açúcar começam a ser numerados a partir da extremidade da cadeia mais próxima ao grupo carbonil. Cada uma das oito D-aldo-hexoses, que diferem em estereoquímica em C-2, C-3 ou

C-4, tem nome próprio: D-glicose, D-galactose, D-manoze e assim por diante (Figura 7-3a). As cetonas de quatro e cinco carbonos são nomeadas pela inserção de “ul” ao nome da aldose correspondente; por exemplo, D-ribulose é a cetopentose que corresponde à aldopentose D-ribose. (A importância da ribulose será discutida no estudo da fixação do CO_2 atmosférico pelas plantas, no Capítulo 20.) As ceto-hexoses são nomeadas de maneira diferente: por exemplo, frutose (do latim *fructus*, “fruto”; frutas são uma das fontes desse açúcar) e sorbose (de *Sorbus*, o gênero da sorveira, planta cujos frutos são ricos em álcool-açúcar sorbitol). Dois açúcares que diferem apenas na configuração de um carbono são chamados de **epímeros**; D-glicose e D-manoze, que diferem apenas na estequiométrica do C-2, são epímeros, assim como D-glicose e D-galactose (que diferem em C-4, ver **Figura 7-4**).

Alguns açúcares ocorrem naturalmente na forma L; exemplos são L-arabinose e os isômeros L de alguns derivados de açúcar que comumente compõem glicoconjugados (Seção 7.3).

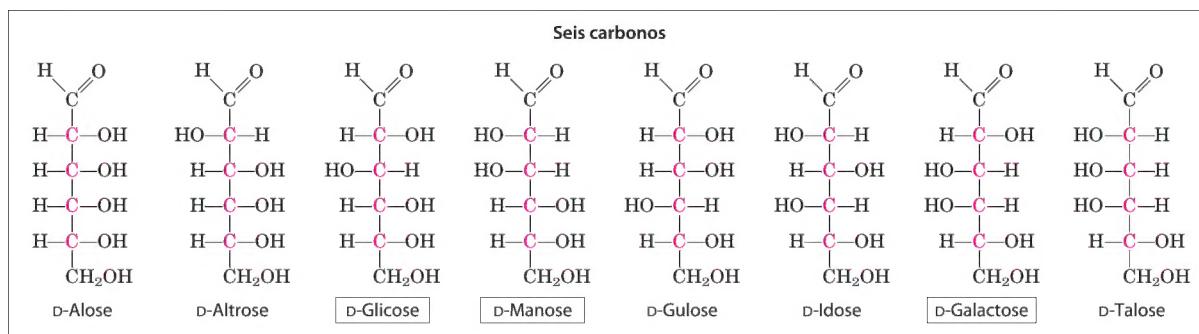
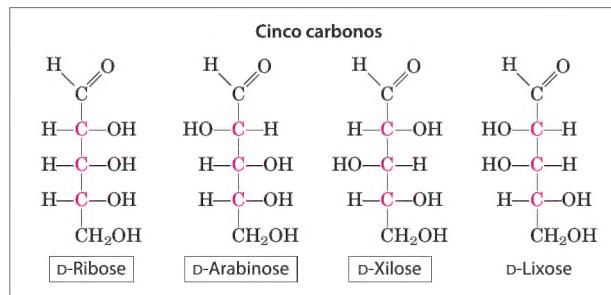
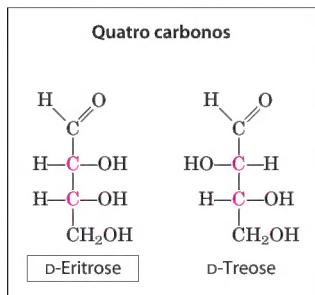
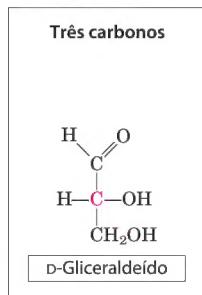


Os monossacarídeos comuns têm estruturas cílicas

Por simplicidade, até este momento foram representadas as estruturas de aldoses e cetonas como moléculas de cadeia aberta (Figuras 7-3 e 7-4). Na verdade, em solução aquosa, as aldotetroses e todos os monossacarídeos com cinco ou mais átomos de carbono no esqueleto ocorrem predominantemente como estruturas cílicas (em anel), nas quais o grupo carbonil está formando uma ligação covalente com o oxigênio de um grupo hidroxila presente na cadeia. A formação dessas estruturas em anel é o resultado de uma reação geral entre álcoois e aldeídos ou cetonas para formar derivados chamados de **hemiacetais** ou **hemicetais**. Duas moléculas de um álcool podem ser adicionadas ao carbono do carbonil; o produto da primeira adição é um hemiacetal (quando adicionado a uma aldose) ou um hemicetal (quando adicionado a uma cetose). Se os grupos —OH e carbonil vierem da mesma molécula, o resultado será um anel com cinco ou seis membros. A adição de uma segunda molécula de álcool produz o acetal ou cetal completo (**Figura 7-5**), e a ligação formada é uma ligação glicosídica. Quando as duas moléculas reagentes forem monossacarídeos, o acetal ou cetal formado será um dissacarídeo.

A reação com a primeira molécula de álcool cria um centro quiral adicional (o carbono do carbonil). Como o álcool pode ser adicionado de duas maneiras diferentes, atacando a “frente” ou as “costas” do carbono do carbonil, a reação pode produzir qualquer uma de duas configura-

(a) D-Aldoses



(b) D-Cetoses

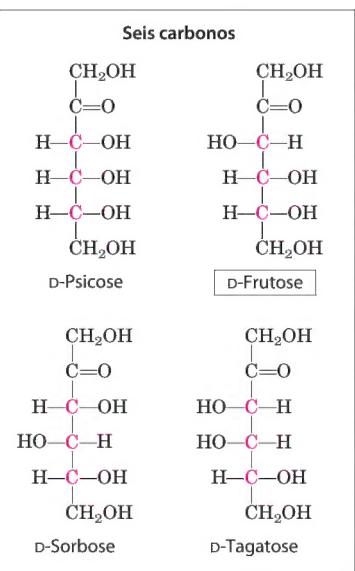
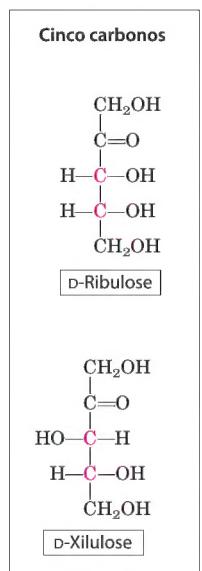
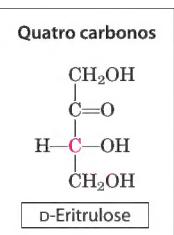
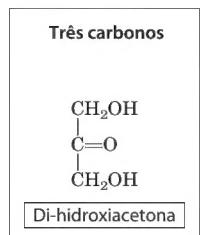


FIGURA 7-3 Aldoses e cetoses. As séries de (a) D-aldoses e (b) D-cetoses têm de três a seis átomos de carbono, mostradas como fórmulas de projeção. Os átomos de carbono em vermelho são centros quirais. Em todos estes isômeros D, o carbono quiral *mais distante do carbono da carbonila* apresenta a mesma configuração do carbono quiral do D-gliceraldeído. Os açúcares com os nomes dentro de retângulos são os mais comuns na natureza; você os encontrará novamente neste capítulo e em capítulos posteriores.

ções estereoisoméricas, denominadas α e β . Por exemplo, a D-glicose ocorre em solução na forma de hemiacetal intramolecular no qual o grupo hidroxila livre do C-5 reagiu com o C-1 do aldeído, gerando o carbono assimétrico e produzindo dois possíveis estereoisômeros, designados α e β (Figura 7-6). As formas isoméricas de monossacarídeos que diferem apenas na configuração do átomo de carbono hemiacetal ou hemicetal são chamadas de **anômeros**, e o átomo de carbono da carbonila é chamado de **carbono anomérico**.

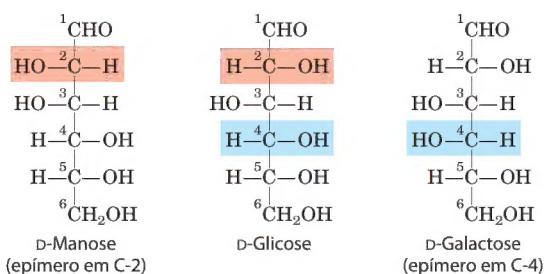


FIGURA 7-4 Epímeros. D-Glicose e dois de seus epímeros são mostrados como fórmulas de projeção. Cada epímero difere da D-glicose na configuração de um centro quiral (sombreado em vermelho ou azul).

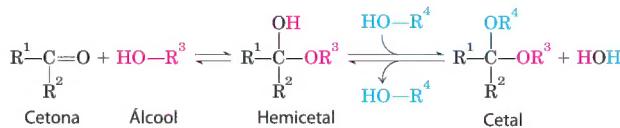
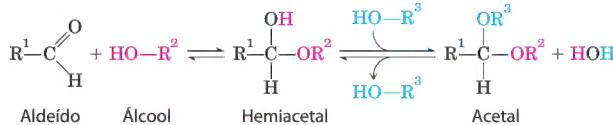


FIGURA 7-5 Formação de hemiacetals e hemicetals. Um aldeído ou uma cetona podem reagir com um álcool em uma razão de 1:1 para gerar um hemiacetal ou um hemicetal, respectivamente, criando um novo centro quiral no carbono da carbonila. A substituição de uma segunda molécula de álcool produz um acetal ou um cetal. Quando o segundo álcool é parte de outra molécula de açúcar, a ligação produzida é uma ligação glicosídica (p. 252).

Os compostos com anéis de seis membros são chamados de **piranoses**, pois se assemelham ao composto em anel de seis membros pirano (Figura 7-7). Os nomes sistemáticos para as duas formas em anel da D-glicose são α -D-glicopiranose e β -D-glicopiranose. As ceto-hexoses (como a frutose) também ocorrem como compostos cíclicos com formas anoméricas α e β . Nesses compostos, o grupo da hidroxila em C-5 (ou C-6) reage com o grupo da cetona em C-2, formando um anel **furanose** (ou furanose), contendo uma ligação hemiacetal (Figura 7-5). A D-frutose prontamente forma o anel furanose (Figura 7-7); o anômero mais comum desse açúcar, em formas combinadas ou em derivados, é a β -D-frutofuranose.

As estruturas cíclicas dos açúcares são representadas mais corretamente pelas **fórmulas em perspectiva de Haworth** do que pelas projeções de Fisher comumente utilizadas para as estruturas de açúcares lineares. Nas projeções de Haworth, o anel de seis membros é inclinado para deixar seu plano quase perpendicular ao plano do papel, com as ligações mais próximas do leitor representadas por linhas mais grossas do que aquelas representando as ligações mais distantes, como na Figura 7-7.

CONVENÇÃO-CHAVE: Para converter uma fórmula de projeção de Fisher de qualquer D-hexose linear em uma fórmula em perspectiva de Haworth mostrando a estrutura cíclica da molécula, desenhe o anel de seis membros (cinco carbonos e um oxigênio, na direita superior), numere os átomos no sentido horário começando com o carbono anomérico, e, então, coloque os grupos hidroxila.

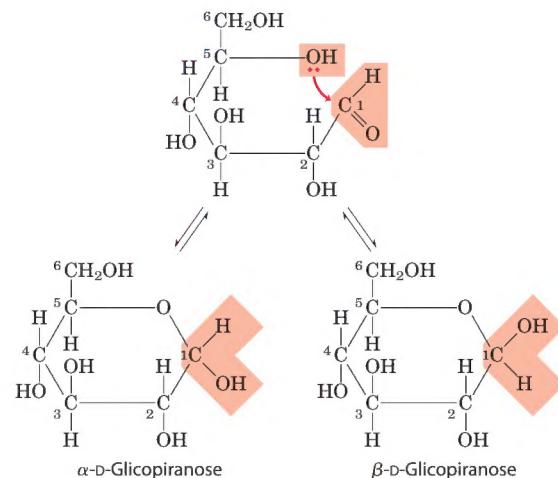
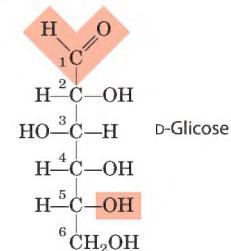
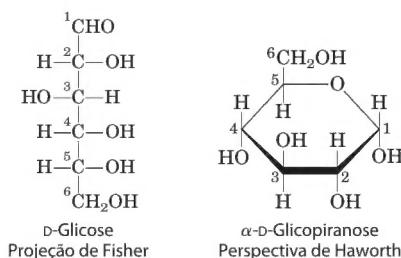


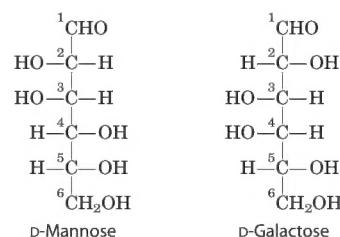
FIGURA 7-6 Formação das duas formas cíclicas da D-glicose. A reação entre o grupo aldeído em C-1 e o grupo hidroxila em C-5 forma uma ligação hemiacetal, produzindo um dos dois estereoisômeros, os anômeros α e β , que diferem apenas na estereoquímica do carbono hemiacetal. Esta reação é reversível. A interconversão dos anômeros α e β é chamada de mutarrotação.

Se um grupo hidroxila estiver à direita na projeção de Fisher, ele é colocado apontando para baixo (ou seja, abaixo do plano do anel) na perspectiva de Haworth; se ele estiver à esquerda na projeção de Fisher, é colocado apontando para cima (ou seja, acima do plano) na perspectiva de Haworth. O grupo $-\text{CH}_2\text{OH}$ terminal projeta-se para cima no enantiômero D-, e para baixo no enantiômero L-. A hidroxila no carbono anomérico pode apontar para cima ou para baixo. Quando a hidroxila anomérica de uma D-hexose estiver no mesmo lado do anel que o C-6, a estrutura é, por definição, β ; quando estiver do lado oposto do C-6, a estrutura é α . ■

PROBLEMA RESOLVIDO 7-1

Conversão de projeções de Fisher a fórmulas em perspectiva de Haworth

Desenhe as fórmulas em perspectiva de Haworth para D-manose e D-galactose.



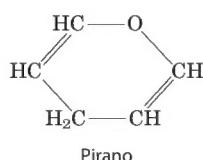
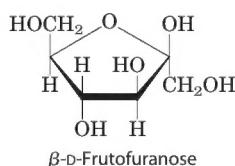
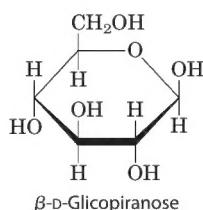
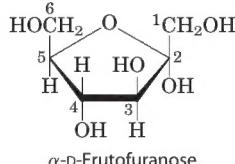
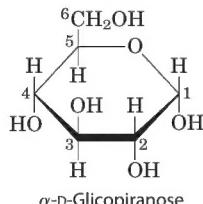


FIGURA 7-7 Piranoses e furanoses. As formas piranose da D-glicose e as formas furanose da D-frutose estão mostradas aqui como fórmulas em perspectiva de Haworth. Os limites do anel mais próximos ao leitor são representados por linhas mais grossas. Os grupos hidroxila abaixo do plano do anel nestas perspectivas de Haworth apareceriam à direita em uma projeção de Fischer (compare com a Figura 7-6). Pirano e furano estão mostrados para comparações.

Solução: As piranoses são anéis de seis membros, então coemece com estruturas de Haworth de seis membros com o átomo de oxigênio no topo à direita. Numere os átomos de carbono no sentido horário, começando com o carbono da aldose. Para a manose, coloque os grupos hidroxila nos C-2, C-3 e C-4 para cima, para cima e para baixo do anel, respectivamente (pois na projeção de Fisher elas estão no lado esquerdo, esquerdo e direito da estrutura da manose). Para a D-galactose, os grupos hidroxila estão orientados para baixo, para cima e para cima em C-2, C-3 e C-4, respectivamente. A hidroxila em C-1 pode estar para cima ou para baixo; existem duas configurações possíveis, α e β , para este carbono.

PROBLEMA RESOLVIDO 7-2

Desenhando fórmulas em perspectiva de Haworth para isômeros de açúcar

Desenhe as fórmulas em perspectiva de Haworth para α -D-manose e β -L-galactose.

Solução: A fórmula em perspectiva de Haworth para a D-manose do Problema Resolvido 7-1 pode ter o grupo hidroxila em C-1 apontando para cima ou para baixo. De acordo com a convenção-chave, para a forma α , a hidroxila em C-1 aponta para baixo quando C-6 está para cima, como é o caso na D-manose.

Para a β -L-galactose, use a representação de Fisher da D-galactose (ver Problema Resolvido 7-1) para desenhar a correta representação de Fisher da L-galactose, que é a sua imagem especular: os grupos hidroxila em C-2, C-3, C-4 e C-5 estão à esquerda, direita, direita e esquerda, respectivamente. Agora, desenhe a perspectiva de Haworth, um anel de seis membros no qual os grupos —OH em C-2, C-3 e C-4 estão orientados para cima, para baixo e para baixo, respectivamente, pois na representação de Fisher eles estão à esquerda, direita e direita. Como essa é a forma β , o —OH no carbono anomérico aponta para baixo (mesmo lado que C-5).

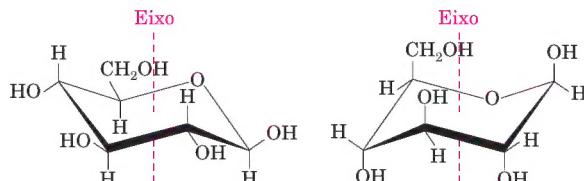
Os anômeros α e β da D-glicose se interconvertem em solução aquosa por um processo chamado de **mutarrotação**, no qual uma forma em anel (por exemplo, o anômero α) se abre brevemente na forma linear, e então se fecha novamente produzindo o anômero β (Figura 7-6). Portanto, uma solução de α -D-glicose e uma solução de β -D-glicose formarão, ao final, misturas de equilíbrio idênticas, as quais têm propriedades ópticas idênticas. Essa mistura consiste em aproximadamente um terço de α -D-glicose, dois terços de β -D-glicose e quantidades muito pequenas das formas linear e em anel de cinco membros (glicofuranose).

Fórmulas em perspectiva de Haworth, como aquelas da Figura 7-7, são comumente utilizadas para mostrar a estereoquímica das formas em anel de monossacarídeos. Porém, o anel de seis membros piranose não é planar, como a perspectiva de Haworth sugere, mas tende a assumir uma de duas conformações em “cadeira” (Figura 7-8). Relembre do Capítulo 1 (p. 18-19), em que duas *conformações* de uma molécula são interconversíveis sem quebra de ligações covalentes, enquanto duas *configurações* podem ser interconvertidas somente com a quebra de uma ligação covalente. Para interconverter as configurações α e β , a ligação envolvendo o átomo de oxigênio do anel precisa ser rompida, mas a interconversão de duas formas em cadeira (que são *conformímeros*) não requer quebra de ligações e não altera as configurações de nenhum dos carbonos do anel. As estruturas tridimensionais específicas de unidades de monossacarídeos são importantes para a determinação das propriedades biológicas e das funções de alguns polissacarídeos, como será visto.

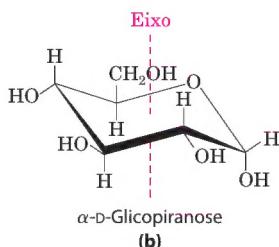
Os organismos contêm diversos derivados de hexose

Além das hexoses simples, como glicose, galactose e manose, existe uma variedade de derivados de açúcar nos quais o grupo hidroxila do composto parental é substituído por outro grupamento ou um átomo de carbono é oxidado a um grupo carboxil (Figura 7-9). Em glicosamina, galactosamina e manosamina, a hidroxila no C-2 do composto parental está substituído por um grupo amino. Normalmente, o grupo amino está condensado ao ácido acético, como na N-acetilglicosamina. Esse derivado da glicosamina compõe muitos polímeros estruturais, incluindo aqueles da parede celular de bactérias. A substituição de um hidrogênio por um grupo hidroxila no C-6 da L-galactose ou L-manose origina L-fucose ou L-ramnose, respectivamente. A L-fucose é encontrada nos oligossacarídeos complexos que compõem glicoproteínas e glicolipídeos; a L-ramnose é encontrada em polissacarídeos vegetais.





Duas possíveis formas em cadeira da β -D-glicopyranose
(a)



α -D-Glicopyranose
(b)

FIGURA 7-8 Fórmulas conformacionais de piranoses. (a) Duas formas em cadeira do anel piranose da β -glicopyranose. Dois conformeres como estes não são prontamente interconversíveis; um aporte de cerca de 46 kJ de energia por mol de açúcar é necessário para forçar a interconversão das formas em cadeira. Outra conformação, o "barco" (não mostrada), é vista apenas em derivados com substituintes muito grandes. (b) A conformação em cadeira preferencial da α -D-glicopyranose.

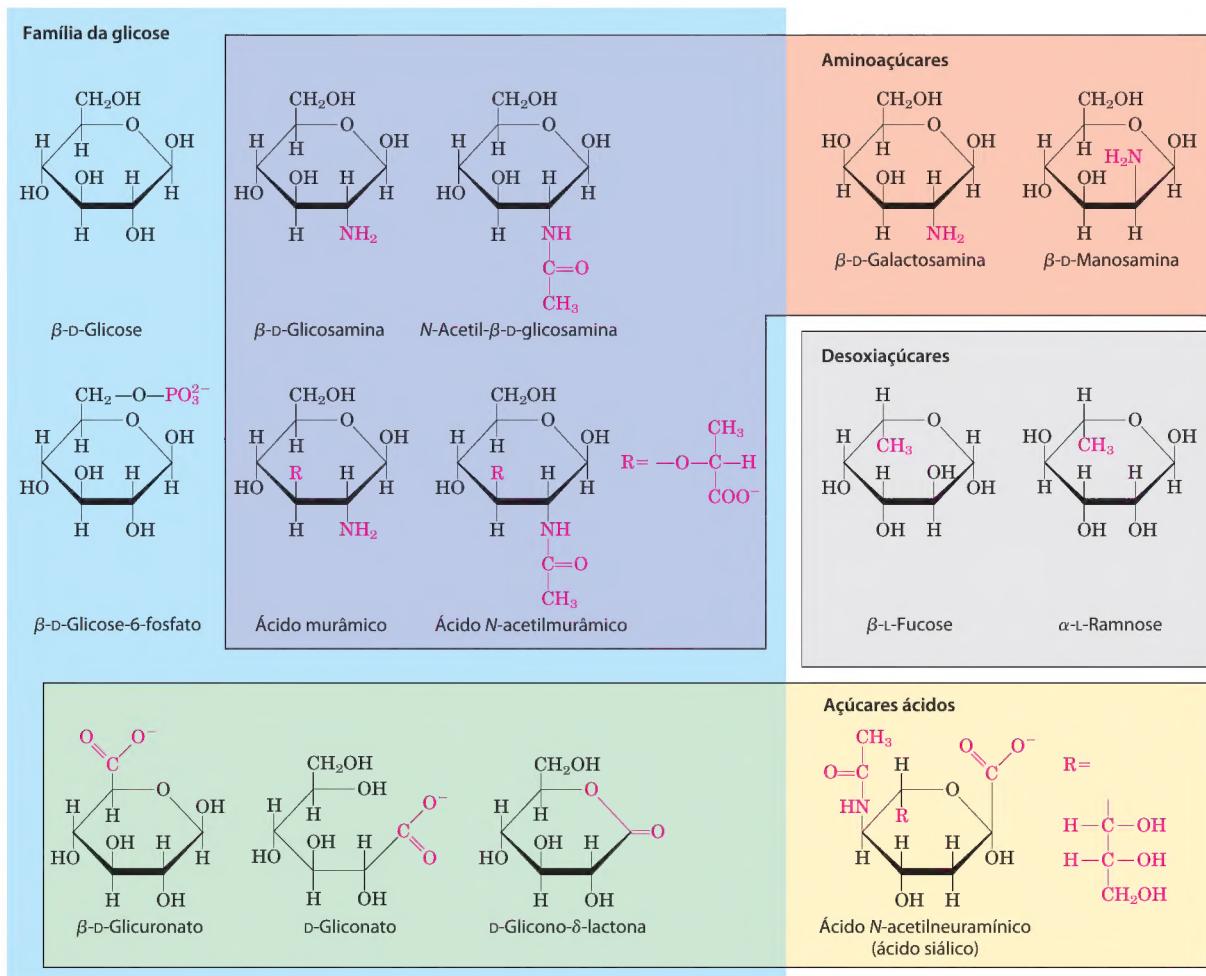


FIGURA 7-9 Alguns derivados de hexose importantes na biologia.

Nos aminoáçúcares, um grupo $-\text{NH}_2$ substitui um dos grupos $-\text{OH}$ na hexose parental. A substituição de $-\text{H}$ por $-\text{OH}$ origina um desoxiaçúcar; observe que os desoxiaçúcares mostrados aqui ocorrem como isômeros L na

natureza. Os açúcares ácidos contêm um grupo carboxilato, o que confere carga negativa em pH neutro. D-Glicono- δ -lactona é o resultado da formação de uma ligação éster entre o grupo carboxilato em C-1 e o grupo hidroxila em C-5 (também conhecido como o carbono δ do D-gliconato).

A oxidação do carbono do carbonil (aldeído) a carbóxil na glicose produz ácido glicônico, utilizado na medicina como um contraíon inócuo para a administração de fármacos positivamente carregados (tais como o quirino) ou íons (tais como o Ca^{2+}). Outras aldoses originarão outros **ácidos aldônicos**. A oxidação do carbono na outra extremidade da cadeia carbônica – C-6 da glicose, galactose ou manose – forma o **ácido urônico** correspondente: ácidos glicurônico, galacturônico ou manurônico. Tanto os ácidos aldônicos como os urônicos formam ésteres intramoleculares estáveis chamados de lactonas (Figura 7-9, embaixo à esquerda). Os ácidos siálicos constituem uma família de açúcares com o mesmo esqueleto de nove carbonos. Um deles, o ácido *N*-acetilneuramínico (frequentemente chamado apenas de “ácido siálico”), é um derivado da *N*-acetilmanosamina, que ocorre em muitas glicoproteínas e glicolipídeos animais. Os

grupos ácidos carboxílicos dos derivados de açúcar ácidos estão ionizados em pH 7, e esses compostos são, portanto, corretamente nomeados como carboxilatos – glicuronato, galacturonato, e assim por diante.

Muito frequentemente durante a síntese e o metabolismo de carboidratos, os intermediários não são os próprios açúcares, mas os seus derivados fosforilados. A condensação do ácido fosfórico com um dos grupos hidroxila de um açúcar forma um éster de fosfato, como na glicose-6-fosfato (Figura 7-9), o primeiro metabólito da rota por meio da qual a maioria dos organismos oxida a glicose para energia. Os açúcares fosforilados são relativamente estáveis em pH neutro e têm carga negativa. Um dos efeitos da fosforilação intracelular de açúcares é o confinamento do açúcar dentro da célula; a maioria das células não tem transportadores para açúcares fosforilados na membrana plasmática. A fos-

QUADRO 7-1



MEDICINA

Dosagem de glicose sanguínea no diagnóstico e no tratamento do diabetes

A glicose é o principal combustível para o cérebro. Quando a quantidade de glicose que chega até o cérebro é muito baixa, as consequências podem ser desastrosas: letargia, coma, dano cerebral permanente e morte (ver Figura 23-24). Com a evolução, os animais desenvolveram mecanismos hormonais complexos para garantir que a concentração de glicose no sangue permaneça alta o suficiente (aproximadamente 5 mm) para satisfazer as necessidades cerebrais, mas não alta demais, já que níveis elevados de glicose no sangue também podem ter consequências fisiológicas sérias.

Os indivíduos com diabetes melito dependente de insulina não produzem insulina suficiente, o hormônio que normalmente atua para a redução da concentração de glicose no sangue, e, se o diabetes não for tratado, os níveis de glicose sanguínea nesses indivíduos podem elevar-se, ficando algumas vezes maiores do que o normal. Acredita-se que esses altos níveis de glicose sejam pelo menos uma das causas das sérias consequências de longo prazo no diabetes não tratado – insuficiência renal, doenças cardiovasculares, cegueira e cicatrização debilitada –, de modo que um dos objetivos da terapia é prover exatamente a quantidade de insulina suficiente (por injeção) para manter os níveis de glicose próximos do normal. Para manter o balanço correto entre exercício, dieta e insulina para cada indivíduo, a concentração de glicose sanguínea deve ser dosada algumas vezes ao dia, e a quantidade de insulina injetada deve ser ajustada de modo apropriado.

As concentrações de glicose no sangue e na urina podem ser determinadas por meio de um ensaio simples para açúcares redutores, como a reação de Fehling, que por muitos anos foi o teste diagnóstico padrão para diabetes. Dosagens modernas precisam de apenas uma gota de sangue, que é adicionada a uma fita de teste contendo a enzima glicose-oxidase, que catalisa a seguinte reação:



Uma segunda enzima, uma peroxidase, catalisa a reação do H_2O_2 com um composto incolor gerando um produto colorido, quantificado com um fotômetro simples que mostra a concentração de glicose no sangue.

Como os níveis de glicose sanguínea variam com os períodos de refeição e exercício, essas dosagens em momentos específicos não refletem a glicose sanguínea *média* ao longo de horas ou dias, de modo que elevações perigosas podem passar despercebidas. A concentração de média glicose pode ser estimada pelo seu efeito na hemoglobina, a proteína carreadora de oxigênio dos eritrócitos (p. 163). Transportadores na membrana dos eritrócitos equilibram a concentração de glicose intracelular e plasmática, de modo que a hemoglobina está constantemente exposta à concentração de glicose presente no sangue, qualquer que seja essa concentração. Uma reação não enzimática ocorre entre a glicose e os grupos amino primários da hemoglobina (tanto a Val aminoterminal quanto os grupos amino ϵ dos resíduos de Lys; Figura Q-1). A velocidade desse processo é proporcional à concentração de glicose; por isso, essa reação pode ser usada como base para a estimativa do nível médio de glicose sanguínea ao longo de semanas. A quantidade de hemoglobina glicada (HbG) circulante em qualquer momento reflete a concentração de glicose sanguínea média durante o “período de vida” do eritrócito (cerca de 120 dias), embora a concentração das últimas duas semanas seja a mais importante na determinação do nível de HbG.

A extensão de **glicação da hemoglobina** (chamada assim para distingui-la da glicosilação, a transferência *enzimática* de glicose a uma proteína) é medida clinicamente pela extração da hemoglobina de uma pequena amostra de sangue seguida pela separação eletroforética de HbG e hemoglobina não modificada, aproveitando a diferença de carga resultante da modificação do(s) grupo(s) amino. Valores de HbG normais são cerca de 5% da hemoglobina total (correspondendo à glicose san-

forilação também ativa açúcares para subsequente transformação química. Alguns derivados de açúcares fosforilados importantes são componentes dos nucleotídeos (discutido no próximo capítulo).

Os monossacarídeos são agentes redutores

 Os monossacarídeos podem ser oxidados por agentes oxidantes relativamente suaves, como o íon cúprico (Cu^{2+}). O carbono do carbonil é oxidado a um grupo carboxil. A glicose e outros açúcares capazes de reduzir o íon cúprico são chamados de **açúcares redutores**. O íon cúprico oxida a glicose e certos outros açúcares a uma complexa mistura de ácidos carboxílicos. Essa é a base da reação de Fehling, teste semiquantitativo para a presença de açúcar redutor, que por muitos anos foi utilizado para detectar e

dosar níveis elevados de glicose em pessoas com diabetes melito. Hoje, utilizam-se métodos mais sensíveis, que envolvem uma enzima imobilizada em uma tira de teste e requerem apenas uma única gota de sangue (Quadro 7-1). ■

Os dissacarídeos contêm uma ligação glicosídica

Os dissacarídeos (como maltose, lactose e sacarose) consistem em dois monossacarídeos unidos covalentemente por uma **ligação O-glicosídica**, a qual é formada quando um grupo hidroxila de uma molécula de açúcar, normalmente cíclica, reage com o carbono anomérico de outro (Figura 7-10). Essa reação representa a formação de um acetal a partir de um hemiacetal (como a glicopiranose) e um álcool (um grupo hidroxila da segunda molécula de açúcar) (Figura 7-5), e o composto resultante é chamado de glicosídeo.

guínea igual a 120 mg/100 mL). Em pessoas com diabetes não tratado, entretanto, esse valor pode ser tão alto quanto 13%, indicando um nível de glicose sanguínea médio de cerca de 300 mg/100 mL, ou seja, perigosamente alto. Um dos critérios para o sucesso em um programa individual de terapia com insulina (quando começar, frequência e quantidade de insulina injetada) é a manutenção dos valores de HbG em cerca de 7%.

Na reação de glicação da hemoglobina, a primeira etapa (formação de uma base de Schiff) é seguida por uma série de rearranjos, oxidações e desidratações da porção

de carboidrato, produzindo uma mistura heterogênea de AGE (produtos finais de glicação avançada; do inglês, *advanced glycation end products*). Esses produtos podem deixar o eritrócito e formar ligações cruzadas covalentes entre as proteínas, interferindo com a função normal delas (Figura Q-1). O acúmulo de concentrações relativamente altas de AGE em pessoas com diabetes pode causar, pela ligação cruzada de proteínas críticas, problemas aos rins, à retina e ao sistema cardiovascular, sintomas que caracterizam a doença. Esse processo patogênico é um potencial alvo para a ação de fármacos.

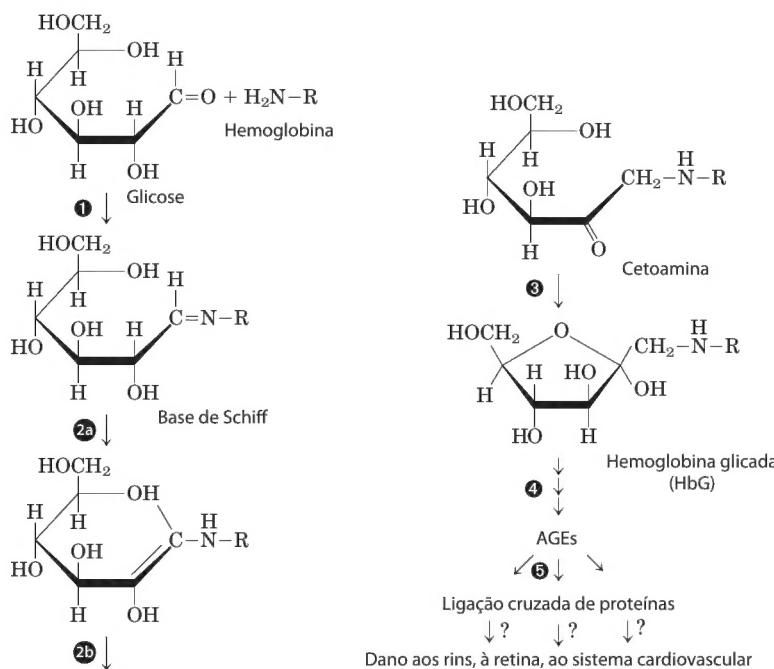


FIGURA Q-1 A reação não enzimática da glicose com um grupo amino primário na hemoglobina começa com 1 a formação de uma base de Schiff, a qual 2 sofre um rearranjo para gerar um produto estável; 3 esta cetoamina depois se converte em sua forma cíclica, originando HbG. 4 Reações seguintes geram produtos finais de glicação avançada (AGE), como ϵ -N-carboximetil-lisina e metilgioxal, compostos que 5 danificam outras proteínas ao ligá-las de modo cruzado, causando alterações patológicas.

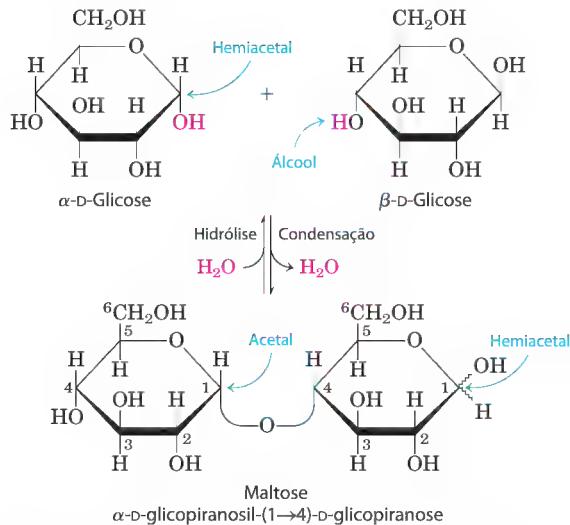


FIGURA 7-10 Formação da maltose. Um dissacarídeo é formado a partir de dois monossacarídeos (aqui, duas moléculas de D-glicose) quando um —OH (álcool) de uma molécula (à direita) se condensa com o hemiacetal intramolecular da outra (à esquerda), com a eliminação de H_2O e a formação de uma ligação glicosídica. O inverso desta reação é uma hidrólise – ataque da ligação glicosídica pela água. A molécula de maltose, mostrada aqui, conserva um hemiacetal redutor no C-1 não envolvido na ligação glicosídica. Como a mutarotação interconverte as formas α e β do hemiacetal, as ligações nesta posição algumas vezes são representadas por linhas onduladas, conforme mostrado aqui, para indicar que a estrutura pode ser tanto α quanto β .

Ligações glicosídicas são prontamente hidrolisadas por ácido, mas resistem à clivagem por base. Assim, os dissacarídeos podem ser hidrolisados para originar seus componentes monossacarídicos livres por fervura em ácido diluído. **Ligações N-glicosídicas** unem o carbono anomérico de um açúcar a um átomo de nitrogênio em glicoproteínas (ver Figura 7-30) e nucleotídeos (ver Figura 8-1).

A oxidação de um açúcar pelo íon cúprico (a reação que define um açúcar redutor) ocorre apenas com a forma linear, a qual existe em equilíbrio com a(s) forma(s) cíclica(s). Quando o carbono anomérico está envolvido em uma ligação glicosídica (ou seja, quando o composto for um acetal ou cetal completo; ver Figura 7-5), a fácil interconversão entre as formas lineares e cíclicas mostrada na Figura 7-6 é impedida. Como o carbono do carbonil pode ser oxidado somente quando o açúcar estiver em sua forma linear, a formação de uma ligação glicosídica gera um açúcar não redutor. Na descrição de dissacarídeos ou polissacarídeos, a extremidade de uma cadeia com um carbono anomérico livre (não envolvido em ligação glicosídica) normalmente é chamada de **extremidade redutora**.

O dissacarídeo maltose (Figura 7-10) contém dois resíduos de D-glicose unidos por uma ligação glicosídica entre o C-1 (o carbono anomérico) de um resíduo de glicose e o C-4 do outro. Como o dissacarídeo conserva um carbono anomérico livre (o C-1 do resíduo de glicose à direita na Figura 7-10), a maltose é um açúcar redutor. A configuração do átomo de carbono anomérico na ligação glicosídica é α . O resíduo de glicose com o carbono anomérico livre pode existir nas formas piranose α ou β .

CONVENÇÃO-CHAVE: Para nomear dissacarídeos redutores como a maltose de forma não ambígua e, especialmente, para nomear oligossacarídeos mais complexos, algumas regras devem ser seguidas. Por convenção, o nome descreve o composto escrito com a extremidade não redutora à esquerda, e é possível “construir” o nome na seguinte ordem: (1) Dar a configuração (α ou β) do carbono anomérico que une a primeira unidade de monossacarídeo (à esquerda) com a segunda. (2) Identificar o resíduo não redutor; para distinguir entre estruturas em anel de cinco e seis membros, inserir “furano” ou “pirano” no nome. (3) Indicar entre parênteses os dois átomos de carbono unidos pela ligação glicosídica, usando uma seta para conectar os dois números; por exemplo, (1 \rightarrow 4) mostra que o C-1 do resíduo de açúcar nomeado primeiramente está unido ao C-4 do segundo. (4) Identificar o segundo resíduo. Se houver um terceiro resíduo, descrever a segunda ligação glicosídica seguindo as mesmas convenções. (Para encurtar a descrição de polissacarídeos complexos, abreviações de três letras ou símbolos coloridos para os monossacarídeos frequentemente são utilizados, como apresentado na Tabela 7-1.) Seguindo essa convenção para a nomenclatura de oligossacarídeos, a maltose é α -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 4)-D-glicopiranose. Como em sua maioria os açúcares encontrados neste livro são os enantiômeros D e a forma piranose das hexoses é predominante, geralmente se utiliza uma versão abreviada do nome formal desses compostos, dando a configuração do carbono anomérico e nomeando os carbonos unidos pela ligação glicosídica. Nesta nomenclatura abreviada, a maltose é Glc(α 1 \rightarrow 4)Glc. ■

O dissacarídeo lactose (Figura 7-11), que produz D-galactose e D-glicose quando hidrolisado, ocorre naturalmente no leite. O carbono anomérico do resíduo de glicose está disponível para oxidação e, portanto, a lactose é um dissacarídeo redutor. Seu nome abreviado é Gal(β 1 \rightarrow 4)Glc. A sacarose (açúcar de mesa) é um dissacarídeo de glic-

TABELA 7-1 Símbolos e abreviações para monossacarídeos comuns e alguns de seus derivados

Abequose	Abe	Ácido glicurônico	◆ GLcA
Arabinose	Ara	Galactosamina	□ GalN
Frutose	Fru	Glicosamina	■ GlcN
Fucose	▲ Fuc	N-Acetylgalactosamina	□ GalNAc
Galactose	○ Gal	N-Acetylglucosamina	■ GlcNAc
Glicose	● Glc	Ácido idurônico	◆ IdoA
Manose	● Man	Ácido murâmico	Mur
Ramnose	Ram	Ácido N-acetilmurâmico	Mur2Ac
Ribose	Rib	Ácido N-acetylneurâmico	◆ Neu5Ac
Xilose	★ Xil	(um ácido siálico)	

Nota: Na convenção comumente utilizada, as hexoses são representadas como círculos, N-acetyl-hexosaminas são quadrados e hexosaminas são quadrados divididos na diagonal. Todos os açúcares com a configuração “glico” são azuis, aqueles com a configuração “galacto” são amarelos e os açúcares “mano” são verdes. Outros substituintes podem ser adicionados conforme a necessidade: sulfato (S), fosfato (P), O-acetil (OAc) ou O-metil (OMe).

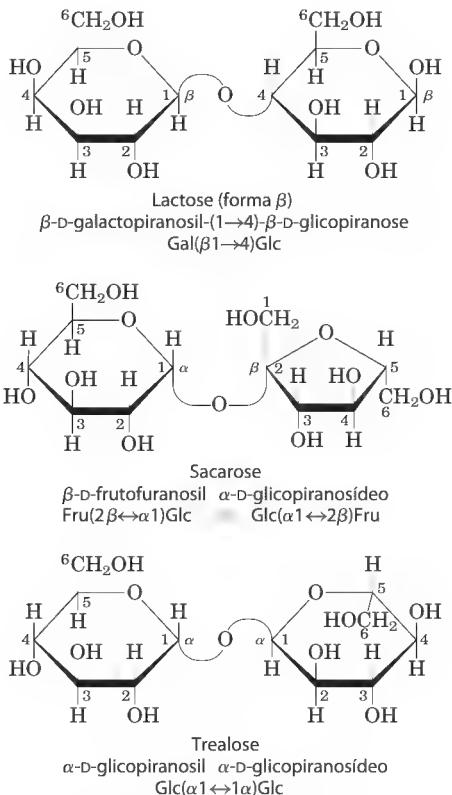


FIGURA 7-11 Dois dissacarídeos comuns. Como a maltose da Figura 7-10, estes dissacarídeos estão representados como perspectivas de Haworth. O nome comum, o nome sistemático completo e a abreviação estão mostrados para cada dissacarídeo. A nomenclatura formal da sacarose nomeia a glicose como o glicosídeo parental, embora a sacarose seja normalmente representada como mostrado, com a glicose à esquerda. As duas nomenclaturas abreviadas mostradas para a sacarose são equivalentes (\equiv).

se e frutose, sintetizado por plantas, mas não por animais. Ao contrário de maltose e lactose, a sacarose não contém um átomo de carbono anomérico livre; os carbonos anoméricos de ambas as unidades monossacarídicas estão envolvidos na ligação glicosídica (Figura 7-11). A sacarose é, assim, um açúcar não redutor, e sua estabilidade frente à oxidação a torna uma molécula adequada para o armazenamento e o transporte de energia em plantas. Na nomenclatura abreviada, uma seta com duas pontas conecta os símbolos que especificam os carbonos anoméricos e suas configurações. Por exemplo, o nome abreviado da sacarose é ou $\text{Glc}(\alpha 1 \leftrightarrow 2\beta)\text{Fru}$ ou $\text{Fru}(\beta 2 \leftrightarrow 1\alpha)\text{Glc}$. A sacarose é o principal produto intermediário da fotossíntese; em muitas plantas, ela é a principal maneira de transportar o açúcar das folhas para as outras partes do corpo da planta. A trealose, $\text{Glc}(\alpha 1 \leftrightarrow 1\alpha)\text{Glc}$ (Figura 7-11) – dissacarídeo de D-glicose que, como a sacarose, é um açúcar não redutor –, é um constituinte importante do fluido circulante (hemolífa) de insetos, servindo como composto de armazenamento de energia. A lactose dá ao leite o seu sabor adoçado, e a sacarose, obviamente, é o açúcar de mesa. A trealose também é comercialmente utilizada como adoçante. O Quadro

7-2 explica a detecção do sabor doce pelos humanos e o modo de ação dos adoçantes artificiais, como o aspartame.

RESUMO 7.1 Monossacarídeos e dissacarídeos

- Os açúcares (também chamados de sacarídeos) são compostos que contêm um grupo aldeído ou cetona e dois ou mais grupos hidroxila.
- Os monossacarídeos geralmente contêm alguns carbonos quirais e, assim, existem em várias formas estereoquímicas, as quais podem ser representadas no papel como projeções de Fischer. Epímeros são açúcares que diferem na configuração de apenas um átomo de carbono.
- Os monossacarídeos comumente formam hemiacetais ou hemicetais internos, nos quais o grupo aldeído ou cetona se une a um grupo hidroxila da mesma molécula, criando uma estrutura cílica; isso pode ser representado como uma fórmula em perspectiva de Haworth. O átomo de carbono originalmente localizado no grupo aldeído ou cetona (o carbono anomérico) pode assumir uma de duas configurações, α e β , interconversíveis por mutarrotação. Na forma linear do monossacarídeo, em equilíbrio com as formas cílicas, o carbono anomérico é facilmente oxidável, tornando o composto um açúcar redutor.
- Um grupo hidroxila de um monossacarídeo pode ser adicionado ao carbono anomérico de um segundo monossacarídeo, formando um acetal chamado de glicosídeo. Nesse dissacarídeo, a ligação glicosídica protege o carbono anomérico de oxidação, tornando-o um açúcar não redutor.
- Oligossacarídeos são polímeros curtos, com alguns monossacarídeos unidos por ligações glicosídicas. Em uma das extremidades da cadeia, a extremidade redutora, está uma unidade de monossacarídeo com seu carbono anomérico não envolvido em uma ligação glicosídica.
- A nomenclatura comum para di ou oligossacarídeos especifica a ordem das unidades de monossacarídeos, a configuração de cada carbono anomérico e os átomos de carbono participantes da(s) ligação(ões) glicosídica(s).

7.2 Polissacarídeos

A maioria dos carboidratos encontrados na natureza ocorre como polissacarídeos, polímeros de média a alta massa molecular ($M_r > 20.000$). Os polissacarídeos, também chamados de **glicanos**, diferem uns dos outros na identidade das unidades de monossacarídeos repetidas, no comprimento das cadeias, nos tipos de ligações unindo as unidades e no grau de ramificação. Os **homopolissacarídeos** contêm somente uma única espécie monomérica; os **heteropolissacarídeos** contêm dois ou mais tipos diferentes (Figura 7-12). Alguns homopolissacarídeos, como o amido e o glicogênio, servem como formas de armazenamento para monossacarídeos utilizados como combustíveis. Outros homopolissacarídeos, como a celulose e a quitina, atuam como elementos estruturais em paredes celulares de plantas e em exoesqueletos de animais. Os heteropolissacarídeos



O doce é um dos cinco sabores básicos que os humanos podem sentir (Figura Q-1); os outros são azedo, amargo, salgado e umami. O sabor doce é detectado por receptores proteicos presentes na membrana plasmática das células gustativas nas papilas gustativas da superfície da língua. Em humanos, dois genes bastante relacionados (*T1R2* e *T1R3*) codificam os receptores para o sabor doce (Figura Q-2). Quando uma molécula com uma estrutura compatível liga-se a esses receptores no domínio extracelular de uma célula gustativa, ela desencadeia uma série de eventos dentro da célula (incluindo a ativação de uma proteína ligadora de GTP; ver Figura 12-42) que levam à emissão de um sinal elétrico para o cérebro que é, então, interpretado como “doce”. Durante a evolução, houve, provavelmente, a seleção para a capacidade de saborear os compostos presen-

tes nos alimentos contendo nutrientes importantes, como os carboidratos, que são o principal combustível



FIGURA Q-1 Um formidável estímulo para os receptores do sabor doce.

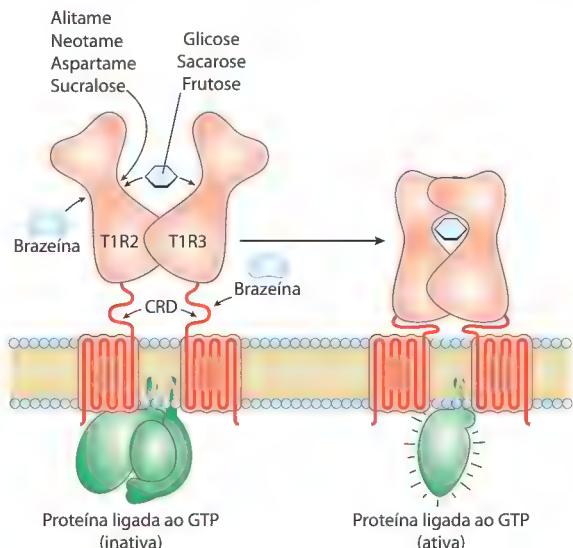


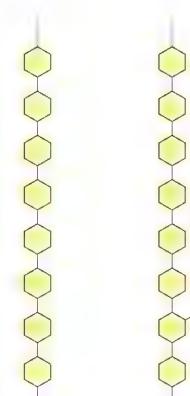
FIGURA Q-2 O receptor para substâncias com sabor doce, com indicação de suas regiões de interação com vários compostos doces (setas curtas). Cada receptor tem um domínio extracelular, um domínio rico em cisteína (CRD), e um domínio de membrana com sete hélices transmembrana, característica comum em receptores de sinalização. Os adoçantes artificiais se ligam a apenas uma das duas subunidades do receptor; os açúcares naturais se ligam às duas. Consulte no Capítulo 1, Problema 14, as estruturas de muitos desses adoçantes artificiais.

fornecem suporte extracelular para organismos de todos os reinos. Por exemplo, a camada rígida do envelope celular bacteriano (o peptidoglicano) é parcialmente composta por um heteropolissacarídeo construído por duas unidades alternadas de monossacarídeo (ver Figura 20-30). Nos tecidos animais, o espaço extracelular é preenchido por alguns tipos de heteropolissacarídeos, os quais formam uma matriz que conecta células individuais e fornece proteção, forma e suporte para células, tecidos e órgãos.

Ao contrário das proteínas, os polissacarídeos geralmente não têm massas moleculares definidas. Essa diferença é uma consequência dos mecanismos de construção dos dois tipos de polímero. Como será visto no Capítulo 27, as proteínas são sintetizadas a partir de um molde (o RNA mensageiro), com sequência e comprimento definidos por enzimas que seguem exatamente esse molde. Para a síntese de polissacarídeos, não existe molde; em vez disso, o programa de síntese de polissacarídeos é intrínseco às enzimas que catalisam a polimerização das unidades monoméricas, e não há um ponto de parada específico no processo sintético; os produtos, portanto, variam em comprimento.

Homopolissacarídeos

Não ramificado Ramificado



Heteropolissacarídeos

Dois tipos de monômeros, não ramificado Múltiplos tipos de monômeros, ramificado

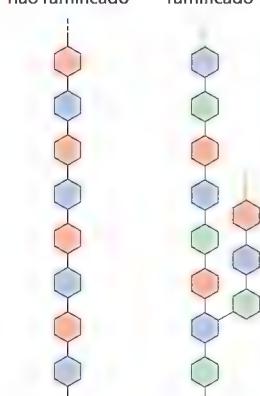


FIGURA 7-12 **Homo e heteropolissacarídeos.** Os polissacarídeos podem ser compostos por um, dois ou alguns monossacarídeos diferentes, em cadeias lineares ou ramificadas de vários comprimentos.



para a maioria dos organismos. A maioria dos açúcares simples, incluindo a sacarose, a glicose e a frutose, tem sabor doce, mas existem outras classes de compostos que também se ligam aos receptores do sabor doce: os aminoácidos glicina, alanina e serina são suavemente doces e inócuos; o nitrobenzeno e o etileno glicol têm um sabor doce forte, porém são tóxicos. (Consulte no Quadro 18-2 um notável mistério médico envolvendo o envenenamento por etilenoglicol.) Alguns produtos naturais são extraordinariamente doces: o esteviosídeo, derivado de açúcar isolado das folhas da planta estévia (*Stevia rebaudiana* Bertoni), é algumas centenas de vezes mais doce do que o volume equivalente de sacarose (açúcar de mesa), e a pequena proteína (54 aminoácidos) brazeína, isolada dos frutos da trepadeira *Pentadiplandra brazzeana* Baillon, com ocorrência no Gabão e em Camarões, é 17.000 vezes mais doce do que a sacarose em comparação molar. Presume-se que o sabor doce desses frutos encoraje o seu consumo por animais, que, então, dispersam geograficamente as sementes estimulando o crescimento de novas plantas.

Existe um grande interesse no desenvolvimento de adoçantes artificiais para auxiliar na redução do peso – compostos que forneçam aos alimentos sabor doce sem adicionar as calorias encontradas nos açúcares. O adoçante artificial aspartame demonstra a importância da estereoquímica na biologia (Figura Q-3). De acordo com um modelo simples para a ligação ao receptor do sabor doce, a ligação envolve três sítios do receptor: AH^+ , B^- e X . O sítio AH^+ contém algum grupo (álcool ou amino) que pode formar uma ligação de hidrogênio com uma carga parcialmente negativa, como o oxigênio do carbo-

nil, da molécula doce; o ácido carboxílico do aspartame contém um oxigênio deste tipo. O sítio B^- contém um grupo com um oxigênio parcialmente negativo disponível para formar uma ligação de hidrogênio com algum átomo parcialmente positivo da molécula doce, tal como o grupo amino do aspartame. O sítio X é orientado perpendicularmente aos outros dois grupos e é capaz de interagir com uma região hidrofóbica da molécula doce, tal como o anel benzeno do aspartame.

Quando o pareamento (*match*) estiver correto, como na Figura Q-3 à esquerda, o receptor do sabor doce será estimulado e o sinal “doce” será conduzido ao cérebro. Quando o pareamento não estiver correto, como na Figura Q-3 à direita, o receptor do sabor doce não será estimulado; na verdade, neste caso, outro receptor (para o sabor amargo) será estimulado pelo estereoisômero “errado” do aspartame. Estereoisomerismo realmente importa!

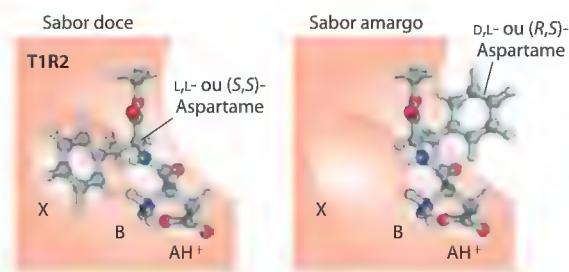


FIGURA Q-3 A base estereoquímica para o sabor dos dois isômeros do aspartame.

Alguns homopolissacarídeos são formas de estocagem de combustível

Os polissacarídeos de armazenamento mais importantes são o amido, em células vegetais, e o glicogênio, em células animais. Ambos ocorrem intracelularmente em grandes agrupamentos ou grânulos. As moléculas de amido e glicogênio são extremamente hidratadas, pois têm muitos grupos hidroxila expostos e disponíveis para formarem ligações de hidrogênio com a água. A maioria das células vegetais possui a capacidade de sintetizar amido (ver Figura 20-2), e o seu armazenamento é especialmente abundante em tubérculos – como a batata – e em sementes.

O **amido** contém dois tipos de polímero de glicose, amilose e amilopectina (Figura 7-13). A amilose consiste em cadeias longas, não ramificadas, de resíduos de D-glicose conectados por ligações ($\alpha 1 \rightarrow 4$) (como na maltose). A massa molecular dessas cadeias varia entre alguns milhares até mais de um milhão. A amilopectina também tem massa molecular elevada (até 200 milhões), mas, ao contrário da amilose, é altamente ramificada. As ligações glicosídicas que unem os resíduos de glicose sucessivos nas cadeias de

amilopectina são ($\alpha 1 \rightarrow 4$); nos pontos de ramificação (que ocorrem a cada 24 a 30 resíduos) são ligações ($\alpha 1 \rightarrow 6$).

O **glicogênio** é o principal polissacarídeo de armazenamento das células animais. Como a amilopectina, o glicogênio é um polímero de subunidades de glicose ligadas por ligações ($\alpha 1 \rightarrow 4$), com ligações ($\alpha 1 \rightarrow 6$) nas ramificações; o glicogênio, porém, é mais ramificado (em média a cada 8 a 12 resíduos) e mais compacto do que o amido. O glicogênio é especialmente abundante no fígado, onde pode constituir até 7% do peso líquido; ele também está presente no músculo esquelético. Nos hepatócitos, o glicogênio é encontrado em grandes grânulos, os quais são agrupamentos de grânulos menores compostos por moléculas únicas de glicogênio, altamente ramificadas, com massa molecular média de alguns milhões. Esses grânulos de glicogênio também apresentam, firmemente ligadas, as enzimas responsáveis pela síntese e degradação do glicogênio.

Como cada ramificação do glicogênio termina com uma unidade de açúcar não redutora, uma molécula de glicogênio com n ramificações tem $n + 1$ extremidades não redutoras, mas apenas uma extremidade redutora. Quando o glicogênio é utilizado como fonte de energia, as unidades de



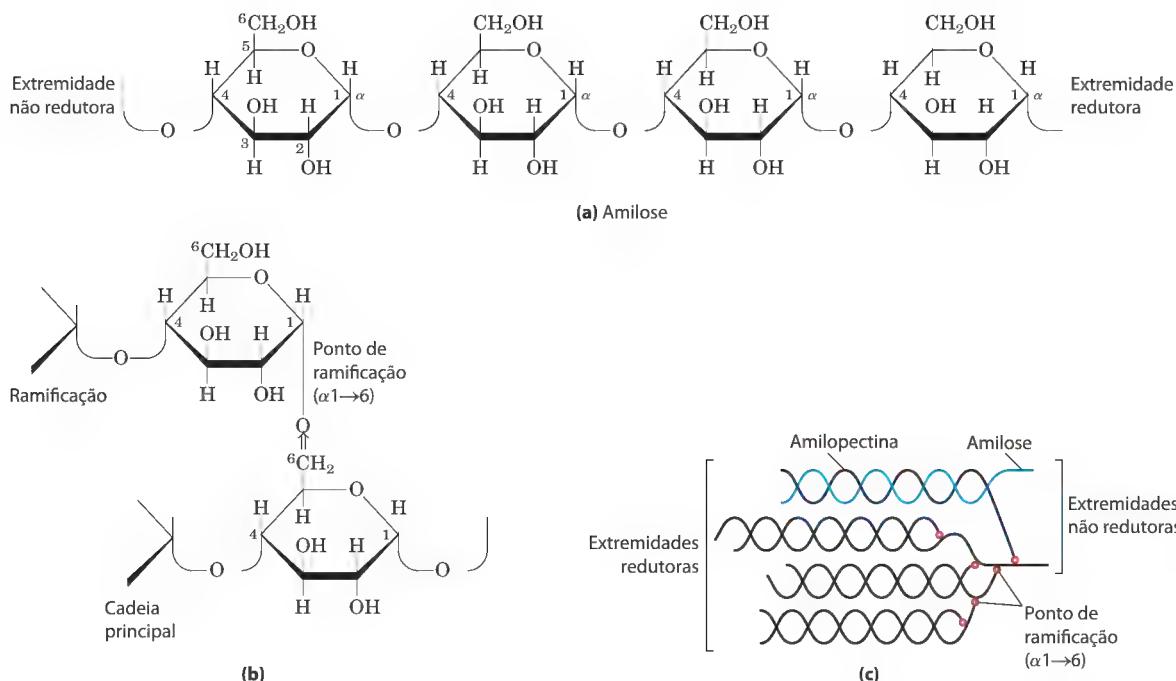


FIGURA 7-13 Glicogênio e amido. (a) Segmento curto de amilose, polímero linear de resíduos de D-glicose em ligações ($\alpha 1 \rightarrow 4$). Uma única cadeia pode conter alguns milhares de resíduos de glicose. A amilopectina tem trechos de resíduos ligados de maneira similar, situados entre pontos de ramificação. O glicogênio tem a mesma estrutura básica, porém é mais ramificado do que a amilopectina. (b) Ponto de ramificação ($\alpha 1 \rightarrow 6$) no glicogênio ou na amilopectina. (c) Agrupamento de amilose e amilopectina como o

glicose são removidas uma de cada vez a partir da extremidade não redutora. As enzimas de degradação que atuam somente em extremidades não redutoras podem trabalhar simultaneamente nas muitas ramificações, acelerando a conversão do polímero em monossacarídeos.

Por que não armazenar a glicose em sua forma monomérica? Calcula-se que os hepatócitos armazenam uma concentração de glicogênio equivalente a 0,4 M de glicose. A concentração existente de glicogênio, que é insolúvel e contribui pouco para a osmolaridade do citosol, é de cerca de 0,01 μ M. Se o citosol contivesse 0,4 M de glicose, a osmolaridade seria perigosamente elevada, causando uma entrada osmótica de água que poderia romper a célula (ver Figura 2-13). Além disso, com a concentração de glicose interna igual a 0,4 M e a concentração externa igual a 5 mM (a concentração no sangue de um mamífero), a variação de energia livre para o transporte de glicose para dentro das células contra este gradiente de concentração tão alto seria proibitivamente grande.

As **dextranas** são polissacarídeos de bactérias e leveduras, compostos por resíduos de D-glicose em ligações ($\alpha 1 \rightarrow 6$); todos têm ramificações ($\alpha 1 \rightarrow 3$), e alguns também têm ramificações ($\alpha 1 \rightarrow 2$) ou ($\alpha 1 \rightarrow 4$). A placa dentária, formada por bactérias que crescem na superfície dos dentes, é rica em dextranas, as moléculas adesivas que permitem às bactérias grudarem-se nos dentes e umas às outras. As dextranas também fornecem uma fonte de glicose para

que supostamente ocorre nos grânulos de amido. Fitas de amilopectina (em preto) formam estruturas em hélice dupla umas com as outras ou com fitas de amilose (em azul). A amilopectina tem pontos de ramificação ($\alpha 1 \rightarrow 6$) frequentes (em vermelho). Os resíduos de glicose nas extremidades não redutoras das ramificações mais externas são removidos enzimaticamente durante a mobilização do amido para produção de energia. O glicogênio tem estrutura similar; porém, é mais ramificado e mais compacto.

o metabolismo bacteriano. Dextranas sintéticas são utilizadas em alguns produtos comerciais (p. ex., *Sephadex*) que servem para o fracionamento de proteínas por meio de cromatografia por exclusão de tamanho (ver Figura 3-17b). As dextranas nesses produtos são quimicamente ligadas por ligações cruzadas para formarem materiais insolúveis de vários tamanhos.

Alguns homopolissacarídeos têm funções estruturais

A **celulose** – substância fibrosa, resistente e insolúvel em água – é encontrada na parede celular de plantas, particularmente em caules, troncos e todas as porções amadeiradas do corpo da planta, e constitui grande parte da massa da madeira e quase a totalidade da massa do algodão. Como a amilose, a celulose é um homopolissacarídeo linear e não ramificado, constituído por 10.000 a 15.000 unidades de D-glicose. Entretanto, existe uma importante diferença: na celulose, os resíduos de D-glicose têm a configuração β (Figura 7-14), enquanto na amilose a glicose está em configuração α . Os resíduos de glicose na celulose estão ligados por ligações glicosídicas ($\beta 1 \rightarrow 4$), ao contrário das ligações ($\alpha 1 \rightarrow 4$) da amilose. Devido à essa diferença, as moléculas individuais de celulose e amilose dobram-se espacialmente de maneiras diferentes, dando a essas moléculas estruturas macroscópicas e propriedades físicas muito diferentes (ver a seguir). A natureza rígida e fibrosa da

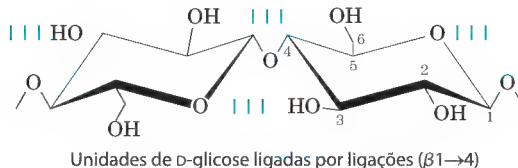


FIGURA 7-14 Celulose. Duas unidades de uma cadeia de celulose; os resíduos de D-glicose estão em ligações $\beta(1 \rightarrow 4)$. As rígidas estruturas em cadeira podem rotar uma em relação à outra.

celulose a torna útil para produtos comerciais como papelão e material para isolamento, e ela é um dos principais componentes dos tecidos de algodão e linho. A celulose é também a matéria-prima para a produção comercial de celofane e seda artificial (*rayon*).

O glicogênio e o amido ingeridos na dieta são hidrolisados por α -amilases e glicosidases, enzimas presentes na saliva e no intestino que rompem ligações glicosídicas ($\alpha 1 \rightarrow 4$) entre as unidades de glicose. A maioria dos animais vertebrados não consegue utilizar a celulose como uma fonte combustível, pois eles carecem de uma enzima que hidrolise ligações $\beta(1 \rightarrow 4)$. Os cupins digerem a celulose (e, portanto, a madeira) prontamente, mas somente porque carregam no trato intestinal um microrganismo simbótico, *Trichonympha*, que secreta celulase, enzima que hidrolisa as ligações $\beta(1 \rightarrow 4)$ (Figura 7-15). Estudos de genética molecular têm revelado que os genes que codificam as enzimas para a degradação da celulose estão presentes nos genomas de uma ampla gama de animais invertebrados, incluindo artrópodes e nematódeos. Existe uma exceção importante para a ausência da celulase nos vertebrados: os animais ruminantes, tais como gado, ovelhas e cabras, carregam no rúmen (o primeiro dos quatro compartimentos de seus estômagos) microrganismos simbóticos que conseguem hidrolisar a celulose, permitindo que estes animais



FIGURA 7-15 Degradção da celulose por *Trichonympha*, protista do estômago dos cupins da madeira. O *Trichonympha* produz a enzima celulase, que hidrolisa as ligações glicosídicas $\beta(1 \rightarrow 4)$ da celulose, tornando a madeira uma fonte metabolizável de açúcar (glicose) para o protista e para o cupim. Embora diversos invertebrados consigam digerir a celulose, apenas alguns vertebrados o fazem (os ruminantes, como o gado, as ovelhas e as cabras); os ruminantes são capazes de utilizar a celulose como alimento porque o primeiro dos seus quatro compartimentos estomacais (o rúmen) é colonizado por bactérias e protistas que secretam celulase.

degradem a celulose das gramíneas macias de sua dieta, mas não de plantas arbustivas. A fermentação no rúmen gera acetato, propionato e β -hidroxibutirato, que o animal utiliza para sintetizar os açúcares do leite (p. 560).

A biomassa (tal como a gramínea *Panicum virgatum*) rica em celulose pode ser utilizada como matéria-prima para a fermentação de carboidratos a etanol, para ser utilizado com um aditivo na gasolina. A produção de biomassa anual na Terra (realizada principalmente pelos organismos fotossintéticos) é o equivalente energético de aproximadamente um trilhão de barris de petróleo, quando convertida a etanol por meio da fermentação. Devido à sua potencial utilidade para a conversão de biomassa em bioenergia, as enzimas que degradam a celulose, tais como a celulase, estão sob intensa investigação. Complexos supramoleculares chamados celulosomas, encontrados na superfície externa da bactéria *Clostridium cellulolyticum*, incluem a subunidade catalítica da celulase, juntamente com proteínas que unem uma ou mais moléculas de celulase à superfície bacteriana, e uma subunidade que se liga à celulose e a posiciona no sítio catalítico.

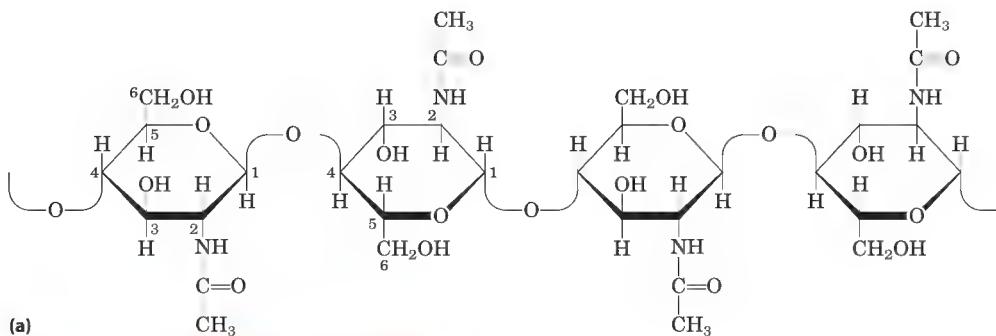
Uma fração principal da biomassa fotossintética está na porção amadeirada das plantas e árvores, a qual consiste em celulose e outros polímeros derivados de carboidratos não facilmente digeríveis, tanto química como biologicamente. As ligninas, por exemplo, formam aproximadamente 30% da massa da madeira. Sintetizadas a partir de precursores que incluem a fenilalanina e a glicose, as ligninas são polímeros complexos com ligações cruzadas covalentes com a celulose que complicam a digestão da celulose pela celulase. Para que as plantas lenhosas sejam utilizadas para a produção de etanol a partir de biomassa, maneiras melhores para digerir os componentes da madeira precisarão ser encontradas.

A **quitina** é um homopolissacarídeo linear composto por resíduos de N-acetilglicosamina em ligações $\beta(1 \rightarrow 4)$ (Figura 7-16). A única diferença química em comparação com a celulose é a substituição de um grupo de hidroxila em C-2 por um grupo de amina acetilado. A quitina forma fibras longas similares às fibras da celulose e, como a celulose, não pode ser digerida por vertebrados. A quitina é o principal componente dos exoesqueletos duros de aproximadamente 1 milhão de espécies de artrópodes – insetos, lagostas e caranguejos, por exemplo – e é provavelmente o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza, depois da celulose; estima-se que 1 bilhão de toneladas de quitina são produzidas a cada ano na biosfera.

Fatores estéricos e ligações de hidrogênio influenciam o enovelamento dos homopolissacarídeos

O enovelamento de polissacarídeos em três dimensões segue os mesmos princípios que governam a estrutura de polipeptídeos. Subunidades com estrutura relativamente rígida ditada por ligações covalentes formam estruturas macromoleculares tridimensionais estabilizadas por interações fracas dentro da própria molécula ou intermoleculares, tais como ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas, interações de van der Waals e, para polímeros com subunidades carregadas, interações eletrostáticas. Como os polissacarídeos têm muitos grupos hidroxila, as ligações de hidrogênio





(b)

têm uma influência especialmente importante em suas estruturas. O glicogênio, o amido e a celulose são compostos por subunidades de piranose (o anel de seis membros), assim como os oligossacarídeos de glicoproteínas e glicolipídeos a serem discutidos a seguir. Tais moléculas podem ser representadas como uma série de rígidos anéis de piranose conectados por um átomo de oxigênio que une dois átomos de carbono (a ligação glicosídica). Existe, em princípio, livre rotação ao redor de ambas as ligações C-O que ligam os resíduos (Figura 7-14), porém, como nos polipeptídeos (ver Figuras 4-2 e 4-9), a rotação ao redor de cada ligação é limitada pelo impedimento estérico gerado pelos substituintes. As estruturas tridimensionais dessas moléculas podem ser descritas nos termos dos ângulos de diedro, da ligação glicosídica (Figura 7-17), análogos aos ângulos ϕ e ψ formados pela ligação peptídica (ver Figura 4-2).

O volume do anel de piranose e seus substituintes, e os efeitos eletrônicos sobre o carbono anomérico, constringem os ângulos ϕ e ψ ; assim, certas conformações são muito mais estáveis do que outras, como pode ser mostrado por um mapa da energia em função destes ângulos (Figura 7-18).

A estrutura tridimensional mais estável para as cadeias ligadas por ligações (α 1-4) do amido e do glicogênio é uma hélice firmemente enrolada (Figura 7-19), estabilizada por ligações de hidrogênio entre as cadeias. Na amilose, que não é ramificada, essa estrutura é regular o suficiente para permitir a cristalização e, portanto, a determinação da estrutura por difração de raios X. O plano médio de cada resíduo ao longo da cadeia da amilose forma um ângulo de 60° com o plano médio do resíduo predecessor, de modo que a estrutura em hélice tem seis resíduos por volta. Para a amilose, o centro da hélice tem

FIGURA 7-16 **Quitina.** (a) Segmento curto de quitina, homopolímero de unidades de *N*-acetil-D-glucosamina em ligações (β 1-4). (b) Besouro *Pelidnota punctata*, com sua armadura (exoesqueleto) de quitina.

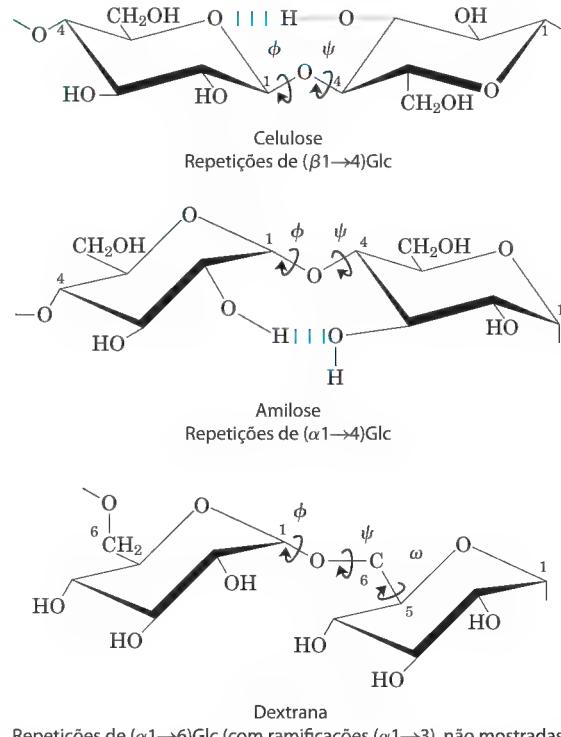
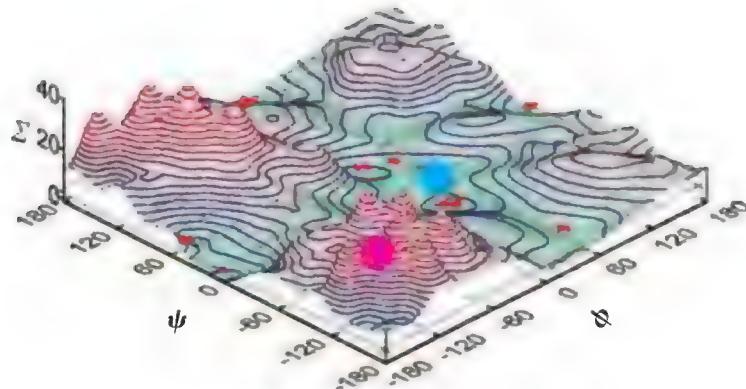


FIGURA 7-17 **Conformação das ligações glicosídicas da celulose, amilose e dextrana.** Os polímeros estão representados como rígidos anéis de piranose unidos por ligações glicosídicas, com livre rotação ao redor dessas ligações. Observe que na dextrana também existe livre rotação ao redor da ligação entre C-5 e C-6 (o ângulo de torção ω [ômega]).

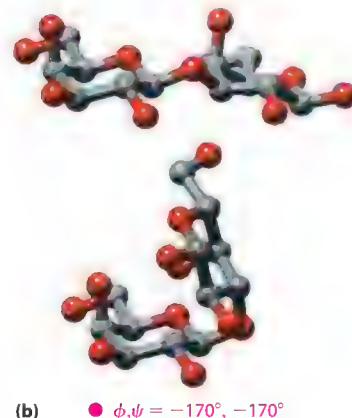




(a)

FIGURA 7-18 **Mapa das conformações mais comuns em oligossacáideos e polissacáideos.** Os ângulos de torção ϕ e ψ (ver Figura 7-17) que definem as relações espaciais entre anéis adjacentes, podem, em princípio, ter qualquer valor entre 0° e 360° . Na verdade, alguns dos ângulos de torção originariam conformações estericamente impedidas, enquanto outros originam conformações que maximizam a formação de ligações de hidrogênio. **(a)** Quando a energia relativa (Σ) para cada valor de ϕ e ψ é representada em um gráfico, com os contornos de isoenergia (“mesma energia”) representados em intervalos de 1 kcal/mol acima do estado de energia

mínima, o resultado é um mapa das conformações preferenciais. Este mapa é análogo ao gráfico de Ramachandran para peptídeos (ver Figuras 4-3 e 4-9). **(b)** Dois extremos energéticos para o dissacarídeo $\text{Gal}(\beta 1 \rightarrow 3)\text{Gal}$; estes valores estão representados no diagrama de energia (a) pelos círculos vermelho e azul. O círculo vermelho indica a conformação menos favorecida; o círculo azul indica a conformação mais favorecida. As conformações conhecidas dos três polissacarídeos mostrados na Figura 7-17 foram determinadas por cristalografia por raios X e todas estão dentro das regiões de menor energia do mapa.



{b}

- $\phi, \psi = -170^\circ, -170^\circ$

precisamente as dimensões corretas para acomodar íons complexos de iodo (I_3^- e I_5^-), formando um complexo azul intenso. Essa interação é a base de um teste qualitativo comum para a presença de amilose.

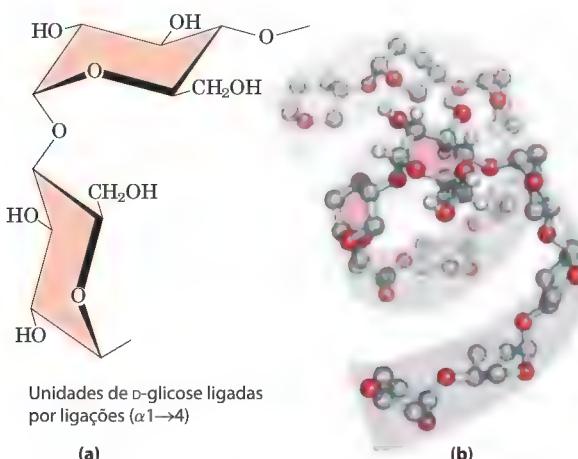


FIGURA 7-19 A estrutura helicoidal do amido (amilose). (a) Na conformação mais estável, por causa das rígidas cadeiras adjacentes, a cadeia polissacarídica é curva, em vez de reta como a da celulose (ver Figura 7-14). (b) Modelo de um segmento da amilose; para maior clareza, os grupos hidroxila de apenas um resíduo de glicose estão representados. Compare os dois resíduos sombreados em cor salmão com as estruturas químicas em (a). Pela conformação das ligações ($\alpha 1 \rightarrow 4$) na amilose, na amilopectina e no glicogênio, estes polímeros formam estruturas firmes em hélice enrolada. Estas estruturas compactas originam os densos grânulos de armazenamento de amido ou glicogênio observados em muitas células (ver Figura 20-2).

Para a celulose, a conformação mais estável é aquela na qual cada cadeira gira 180° em relação aos vizinhos, o que gera uma cadeia reta e estendida. Todos os grupos $-\text{OH}$ estão disponíveis para ligações de hidrogênio com as cadeias vizinhas. Com algumas cadeias estendendo-se lado a lado, uma rede estabilizada por ligações de hidrogênio intercadeia e intracadeia produz fibras supramoleculares retas e estáveis, com grande resistência à tensão (**Figura 7-20**). Essa propriedade da celulose a tem feito uma substância útil para as civilizações por milênios. Muitos produtos manufaturados, incluindo papiro, papel, papelão, viscose, isolantes e vários outros materiais úteis, são derivados da celulose. O conteúdo de água desses materiais é baixo porque o grande número de ligações de hidrogênio entre as cadeias das moléculas de celulose esgota sua capacidade para formação de ligações de hidrogênio.

As paredes celulares de bactérias e algas contêm heteropolissacarídeos estruturais

O componente rígido das paredes celulares bacterianas (o peptidoglicano) é um heteropolímero de resíduos alternados de *N*-acetilglicosamina e ácido *N*-acetilmurâmico unidos por ligações ($\beta 1 \rightarrow 4$) (ver Figura 20-30). Os polímeros lineares encontram-se lado a lado na parede celular, cruzadamente ligados por peptídeos curtos, cuja estrutura exata depende da espécie bacteriana. As ligações cruzadas dos peptídeos juntam as cadeias de polissacarídeo em uma bainha resistente (peptidoglicano) que envolve a célula inteira e impede o inchaço e a lise celular devidos à entrada osmótica de água. A enzima lisozima é bactericida por hidrolisar as ligações glicosídicas ($\beta 1 \rightarrow 4$) entre *N*-acetilglicosamina

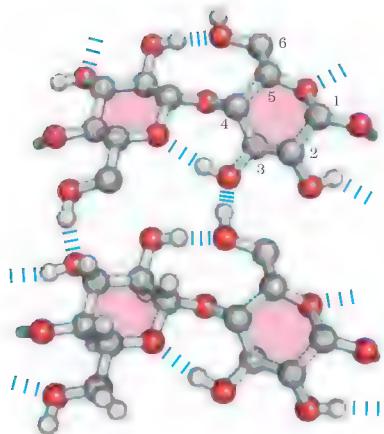


FIGURA 7-20 Cadeias de celulose. Representação em escala de segmentos de duas cadeias de celulose paralelas, mostrando a conformação dos resíduos de D-glicose e as ligações de hidrogênio formando ligações cruzadas. Na unidade de hexose embaixo à esquerda, estão representados todos os átomos de hidrogênio; nas outras três unidades de hexose, os hidrogênios ligados ao carbono foram omitidos para maior clareza, já que não participam de ligações de hidrogênio.

e ácido *N*-acetilmurâmico (ver Figura 6-27); essa enzima é encontrada nas lágrimas dos seres humanos, onde é presumivelmente uma defesa contra infecções bacterianas nos olhos, e é também produzida por certos vírus de bactérias para garantir que o vírus seja liberado de dentro da célula bacteriana hospedeira, etapa essencial do ciclo de infecção viral. A penicilina e os antibióticos relacionados são bactericidas por impedirem a formação das ligações cruzadas, tornando a parede celular muito fraca para resistir à lise osmótica (ver p. 224).

Certas algas marinhas vermelhas têm paredes celulares que contêm **ágar**, mistura de heteropolissacarídeos sulfatados compostos por D-galactose e um derivado de L-galactose, unidos entre C-3 e C-6 por uma ligação éter. O ágar é uma complexa mistura de polissacarídeos, todos com o mesmo esqueleto estrutural, mas sendo substituídos por diferentes quantidades de sulfato e piruvato. A **agarose** ($M_r \sim 150.000$) é o componente do ágar que possui menos grupamentos carregados (sulfatos, piruvatos) (Figura 7-21). Sua propriedade singular de formar géis a torna útil nos laboratórios de bioquímica. Quando uma suspensão de agarose em água é aquecida e depois resfriada, a agarose forma uma hélice dupla: duas moléculas em orientação paralela se enrolam uma na outra, com uma volta da hélice a cada três resíduos; moléculas de água ficam retidas na cavidade central. Essas estruturas helicoidais se associam umas com as outras para formar um gel – uma matriz tridimensional que retém grandes quantidades de água. Géis de agarose são utilizados como suportes inertes para a separação eletroforética de ácidos nucleicos, uma parte essencial do processo de sequenciamento de DNA (p. 302). O ágar também é utilizado para formar uma superfície para o crescimento de colônias bacterianas. Outra utilidade comercial do ágar é a produção de cápsulas, nas quais alguns medicamentos e vitaminas são encapsulados; o ágar seco dissolve-se prontamente no estômago e é metabolicamente inerte.

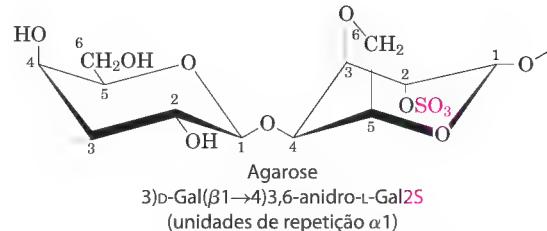


FIGURA 7-21 Agarose. As unidades repetidas da agarose são constituídas por D-galactose unidas por ligação ($\beta 1 \rightarrow 4$) a 3,6-anidro-L-galactose (na qual uma ligação éter conecta C-3 e C-6). Essas unidades são ligadas por ligações glicosídicas ($\alpha 1 \rightarrow 3$), formando polímeros com um comprimento de 600 a 700 resíduos. Uma pequena fração dos resíduos de 3,6-anidro-L-galactose contém um éster de sulfato em C-2 (como mostrado aqui). Os parênteses abertos no nome sistemático indicam que as unidades repetidas estendem-se a partir das duas extremidades.

Os glicosaminoglicanos são heteropolissacarídeos da matriz extracelular

O espaço extracelular dos tecidos dos animais multicelulares é preenchido com um material semelhante a gel, a **matriz extracelular (MEC)**, também chamada de substância fundamental, que mantém as células unidas e provê um meio poroso para a difusão de nutrientes e oxigênio para cada célula. A MEC, que circunda fibroblastos e outras células do tecido conectivo, é composta por uma rede entrelaçada de polissacarídeos e proteínas fibrosas, como colágenos, elastinas e fibronectinas fibrilares. A membrana basal é uma MEC especializada sobre a qual se assentam as células epiteliais; ela é constituída por colágenos especializados, lamininas e heteropolissacarídeos. Esses heteropolissacarídeos, os **glicosaminoglicanos**, formam uma família de polímeros lineares compostos por unidades de dissacarídeo repetidas (Figura 7-22). Os glicosaminoglicanos são exclusivos de animais e bactérias, não sendo encontrados em plantas. Um dos dois monossacarídeos é obrigatoriamente *N*-acetilglicosamina ou *N*-acetilgalactosamina; o outro, na maioria dos casos, é um ácido urônico, geralmente ácido D-glicurônico ou ácido L-idurônico. Alguns glicosaminoglicanos contêm grupos sulfato esterificados. A combinação dos grupos sulfato com os grupos carboxilato dos resíduos de ácido urônico gera uma densidade muito grande de cargas negativas. Para minimizar as forças de repulsão entre grupos vizinhos carregados, essas moléculas adotam em solução uma conformação estendida, formando uma hélice em formato de bastão na qual os grupos carboxilato negativamente carregados situam-se em lados alternados da hélice (como mostrado para a heparina na Figura 7-22). O formato de bastão estendido também leva à maior separação possível entre os grupos sulfato negativamente carregados. O padrão de resíduos de açúcar sulfatados e não sulfatados específico para cada glicosaminoglicano proporciona que diferentes ligantes proteicos, os quais se ligam eletrostaticamente aos glicosaminoglicanos, sejam reconhecidos especificamente. Os glicosaminoglicanos sulfatados são ligados a proteínas extracelulares para formarem proteoglicanos (Seção 7.3).

O glicosaminoglicano **ácido hialurônico** (hialuronana) contém resíduos alternados de ácido D-glicurônico e *N*-ace-



Glicosaminoglicano

Número de dissacarídeos por cadeia

Ácido hialurônico
~50,000

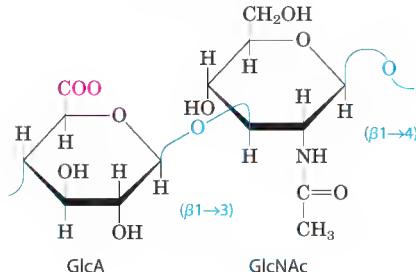
Condroitina-4-sulfato
20-60

Queratan-sulfato
~25

Heparina

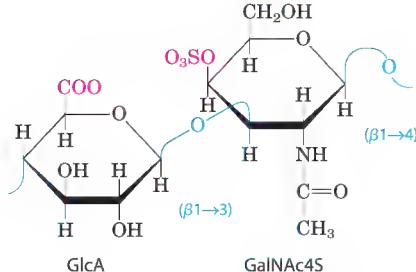
15-90

Dissacarídeo repetido



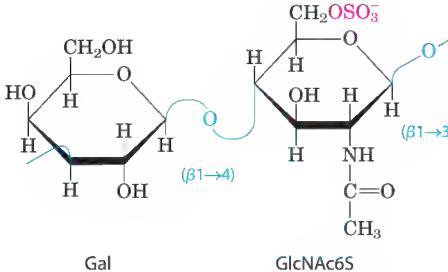
GlcA

GlcNAc



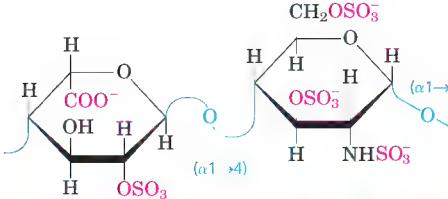
GlcA

GalNAc4S



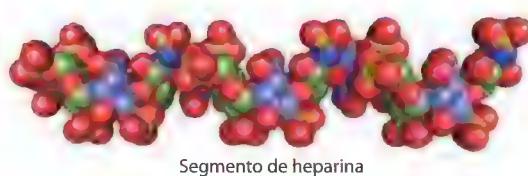
Gal

GlcNAc6S



IdoA2S

GlcNS3S6S

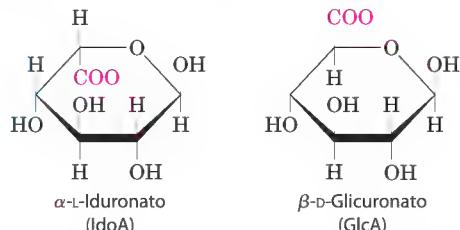


Segmento de heparina

tilglicosamina (Figura 7-22). Contendo até 50.000 repetições da unidade dissacarídica básica, o ácido hialurônico tem massa molecular de alguns milhões; ele forma soluções claras, altamente viscosas, que funcionam como lubrificantes no líquido sinovial das articulações e geram a consistência gelatinosa do humor vítreo nos olhos dos vertebrados (a palavra grega *hyalos* significa “vídeo”; o ácido hialurônico pode ter aparência vítreo ou translúcida). O ácido hialurônico também é um componente da matriz extracelular de cartilagens e tendões, onde auxilia na resistência à tensão e elasticidade, devido à sua forte interação não covalente com outros componentes da matriz. A hialuronidase, enzima secretada por certas bactérias patogênicas, hidrolisa as ligações glicosídicas do ácido hialurônico, tornando os tecidos mais suscetíveis à infecção bacteriana. Em muitas espécies animais, uma enzima similar presente no espermatозoide hidrolisa o revestimento de glicosaminoglicano que envolve o óvulo, permitindo a penetração do espermatозoide.

FIGURA 7-22 Unidades repetidas de alguns glicosaminoglicanos comuns na matriz extracelular. Os glicosaminoglicanos são copolímeros de resíduos alternados de ácido urônico e aminoácidos (o queratan-sulfato é uma exceção), com ésteres de sulfato presentes em diferentes posições, exceto no ácido hialurônico. Os grupos ionizados carboxilato e sulfato (em vermelho nas fórmulas em perspectiva) criam a alta carga negativa característica destes polímeros. A heparina utilizada terapeuticamente contém principalmente ácido idurônico (IdoA) e uma proporção menor de ácido glicurônico (GlcA, não mostrado), em geral sendo altamente sulfatada e de comprimento heterogêneo. O modelo em volume atômico mostra um segmento da estrutura da heparina em solução, como determinada por espectroscopia de RMN (PDB ID 1HPN). Os carbonos no sulfato do ácido idurônico estão em azul; os carbonos no sulfato de glicosamina estão em verde. O oxigênio e o enxofre estão representados nas cores vermelho e amarelo, respectivamente. Os átomos de hidrogênio não estão mostrados (para maior clareza). O heparan-sulfato (não mostrado) é similar à heparina, mas contém uma proporção maior de GlcA e menos grupos sulfato, distribuídos em um padrão menos regular.

Os outros glicosaminoglicanos diferem do ácido hialurônico em três aspectos: em geral são polímeros muito mais curtos, estão covalentemente ligados a proteínas específicas (proteoglicanos), e uma ou as duas unidades monoméricas são diferentes daquelas do ácido hialurônico. O **sulfato de condroitina** (do grego *chondros*, “cartilagem”) auxilia na resistência à tensão das cartilagens, dos tendões, dos ligamentos e das paredes da aorta. O dermatan-sulfato (do grego *derma*, “pele”) auxilia na flexibilidade da pele e também está presente em vasos sanguíneos e válvulas cardíacas. Nesse polímero, muitos dos resíduos de glicuronato presentes no sulfato de condroitina estão substituídos por seu 5-epímero, L-iduronato(IdoA).



Os **queratan-sulfatos** (do grego *keras*, “chifre”) não contêm ácido urônico, e o conteúdo de sulfato é variável. Estão presentes em cartilagens, ossos e várias estruturas cárneas formadas por células mortas: chifres, cabelos, cascos, unhas e garras. O **heparan-sulfato** (do grego *hépar*, “fígado”; originalmente isolado de fígado de cachorro) é sintetizado por todas as células animais e contém arranjos variados de açúcares sulfatados e não sulfatados. Os segmentos sulfatados da cadeia permitem a interação com um grande número de proteínas, incluindo fatores de crescimento.



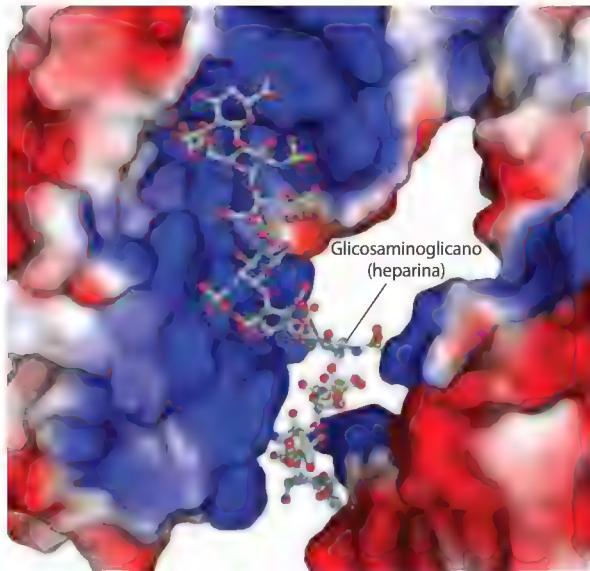


FIGURA 7-23 **Interação entre um glicosaminoglicano e sua proteína ligante.** O fator 1 de crescimento de fibroblastos (FGF1), seu receptor na superfície celular (FGFR) e um curto segmento de um glicosaminoglicano (heparina) foram co cristalizados para gerar a estrutura mostrada aqui (PDB ID 1E00). As proteínas estão representadas por imagens de contorno da superfície, com as cores representando o potencial eletrostático predominante da superfície: vermelho, carga negativa; azul, carga positiva. A heparina está representada no modelo de esfera e bastão, com as cargas negativas ($-\text{SO}_3$ e $-\text{COO}$) atraídas para a superfície positiva (azul) da proteína FGF1. A heparina foi utilizada neste experimento, mas o glicosaminoglicano que se liga ao FGF1 *in vivo* é o heparan-sulfato presente na superfície celular.

mento e componentes da matriz extracelular, assim como várias enzimas e fatores presentes no plasma. A heparina é uma forma fracionada do heparan-sulfato, derivada princi-

palmente de mastócitos (tipo de leucócito). Ela é um agente terapêutico utilizado para inibir a coagulação sanguínea por sua capacidade de se ligar à antitrombina, um inibidor de proteases. A ligação da heparina leva a antitrombina a se ligar e inibir a trombina, protease essencial para a coagulação do sangue. Essa interação é fortemente eletrostática; a heparina tem a maior densidade de cargas negativas que a de qualquer macromolécula biológica conhecida (Figura 7-23). A heparina purificada costuma ser adicionada a amostras de sangue coletadas para análises clínicas e ao sangue doado para transfusão, para impedir a coagulação.

A Tabela 7-2 descreve a composição, as propriedades, as funções e a ocorrência dos polissacáideos descritos na Seção 7.2.

TABELA 7-2 Estruturas e funções de alguns polissacáideos

Polímero	Tipo*	Unidade repetida [†]	Tamanho (número de unidades monossacáridicas)	Função/importância
Amido				
Amilose	Homo-	($\alpha 1 \rightarrow 4$)Glc, linear	50-5.000	Armazenamento de energia: em plantas
Amilopectina	Homo-	($\alpha 1 \rightarrow 4$)Glc, com ramificações ($\alpha 1 \rightarrow 6$)Glc a cada 24-30 resíduos	Até 10^6	
Glicogênio	Homo-	($\alpha 1 \rightarrow 4$)Glc, com ramificações ($\alpha 1 \rightarrow 6$)Glc a cada 8 a 12 resíduos	Até 50.000	Armazenamento de energia: em células bacterianas e animais
Celulose	Homo-	($\beta 1 \rightarrow 4$)Glc	Até 15.000	Estrutural: em plantas, garante rigidez e força às paredes celulares
Quitina	Homo-	($\beta 1 \rightarrow 4$)GlcNAc	Muito grande	Estrutural: em insetos, aranhas e crustáceos, garante rigidez e força ao citoesqueleto
Dextrana	Homo-	($\alpha 1 \rightarrow 6$)Glc, com ramificações ($\alpha 1 \rightarrow 3$)	Vários tamanhos	Estrutural: em bactérias, adesão extracelular
Peptidoglicano	Hetero-; ligado a peptídeos	4)Mur2Ac($\beta 1 \rightarrow 4$)GlcNAc($\beta 1$	Muito grande	Estrutural: em bactérias, garante rigidez e força ao envelope celular
Agarose	Hetero-	3)D-Gal($\beta 1 \rightarrow 4$)3,6-anidro-L-Gal($\alpha 1$	1.000	Estrutural: em algas, material da rede celular
Ácido hialurônico (glicosaminoglicano)	Hetero-; ácido	4)GlcA($\beta 1 \rightarrow 3$)GlcNAc($\beta 1$	Até 100.000	Estrutural: em vertebrados, na matriz extracelular da pele e do tecido conectivo; viscosidade e lubrificação em articulações

*Cada polímero está classificado como um homopolissacáideo (homo-) ou heteropolissacáideo (hetero-).

[†]Os nomes abreviados das unidades repetidas do peptidoglicano, agarose e ácido hialurônico indicam que o polímero contém repetições desta unidade dissacáridica. Por exemplo, no peptidoglicano, o GlcNAc de uma unidade dissacáridica está ligado em ($\beta 1 \rightarrow 4$) ao primeiro resíduo da próxima unidade dissacáridica.



RESUMO 7.2 Polissacarídeos

- Os polissacarídeos (glicanos) servem para o armazenamento de combustível e como componentes estruturais da parede celular e da matriz extracelular.
- Os homopolissacarídeos amido e glicogênio armazenam combustível em células vegetais, animais e bacterianas. São constituídos por D-glicose com ligações ($\alpha 1 \rightarrow 4$), e ambos contêm algumas ramificações.
- Os homopolissacarídeos celulose, quitina e dextrana têm funções estruturais. A celulose, composta por resíduos de D-glicose em ligações ($\beta 1 \rightarrow 4$), garante força e rigidez à parede celular de plantas. A quitina, um polímero de N-acetilglicosamina com ligações ($\beta 1 \rightarrow 4$), fortaece o exoesqueleto de artrópodes. A dextrana forma um revestimento aderente ao redor de certas bactérias.
- Os homopolissacarídeos se dobram em três dimensões. A forma em cadeira do anel piranose é essencialmente rígida, de modo que a conformação dos polímeros é determinada pela rotação das ligações entre os anéis e o átomo de oxigênio na ligação glicosídica. O amido e o glicogênio formam estruturas helicoidais com ligações de hidrogênio dentro da própria cadeia; a celulose e a quitina formam fitas longas e retas que interagem com as fitas vizinhas.
- As paredes celulares de algas e bactérias são fortalecidas por heteropolissacarídeos – peptidoglicano em bactérias, ágar em algas. O dissacarídeo que se repete no peptidoglicano é GlcNAc($\beta 1 \rightarrow 4$)Mur2Ac; no ágar, é D-Gal($\beta 1 \rightarrow 4$)3,6-anidro-L-Gal.
- Os glicosaminoglicanos são heteropolissacarídeos extracelulares nos quais uma das duas unidades de monossacarídeo é um ácido urônico (o queratan-sulfato é uma exceção) e a outra é um aminoácido N-acetilado. Ésteres de sulfato em alguns dos grupos hidroxila e em alguns dos grupos amino de certos resíduos de glicosamina na heparina e no heparan-sulfato dão a esses polímeros uma alta densidade de cargas negativas, forçando-os a adotarem conformações estendidas. Esses polímeros (ácido hialurônico, sulfato de condroitina, dermatan-sulfato e queratan-sulfato) garantem à matriz extracelular viscosidade, adesão e resistência à compressão.

7.3 Glicoconjungados: proteoglicanos, glicoproteínas e glicoesfingolipídeos

Além dos importantes papéis como armazenadores de combustível (amido, glicogênio, dextrana) e como material estrutural (celulose, quitina, peptidoglicanos), os polissacarídeos e oligossacarídeos são transportadores de informação. Alguns fornecem comunicação entre as células e a matriz extracelular circundante; outros sinalizam proteínas para o transporte e a localização em organelas específicas, ou para degradação, quando a proteína é malformada ou supérflua; e outros atuam como pontos de reconhecimento para moléculas de sinalização extracelulares (fatores de crescimento, por exemplo) ou parasitas extracelulares (bactérias e vírus). Em praticamente todas as células eucarióticas, cadeias

de oligossacarídeos específicos ligadas a componentes da membrana plasmática formam uma camada de carboidratos (o glicocálice) com alguns nanômetros de espessura, que serve como uma superfície rica em informações que a célula expõe para o meio exterior. Esses oligossacarídeos são componentes centrais para reconhecimento e adesão entre células, migração celular durante o desenvolvimento, coagulação sanguínea, resposta imune, cicatrização de ferimentos e outros processos celulares. Na maioria desses casos, o carboidrato que carrega a informação está covalentemente ligado a uma proteína ou lipídeo, formando um **glicoconjungado**, molécula biologicamente ativa (Figura 7-24).

Os **proteoglicanos** são macromoléculas da superfície celular ou da matriz extracelular nas quais uma ou mais cadeias de glicosaminoglicanos sulfatados estão covalentemente unidas a uma proteína de membrana ou a uma proteína secretada. A cadeia de glicosaminoglicano pode ligar-se a proteínas extracelulares por meio de interações eletrostáticas entre a proteína e os açúcares negativamente carregados do proteoglicano. Os proteoglicanos são os principais componentes de todas as matrizes extracelulares.

As **glicoproteínas** têm um ou alguns oligossacarídeos de complexidades variadas, unidos covalentemente a uma proteína. Costumam ser encontradas na superfície externa da membrana plasmática (como parte do glicocálice), na matriz extracelular e no sangue. Nas células, são encontradas em organelas específicas, como aparelho de Golgi, grânulos de secreção e lisossomos. As porções oligossacáridicas das glicoproteínas são muito heterogêneas e, assim como os glicosaminoglicanos, são ricas em informação, for-

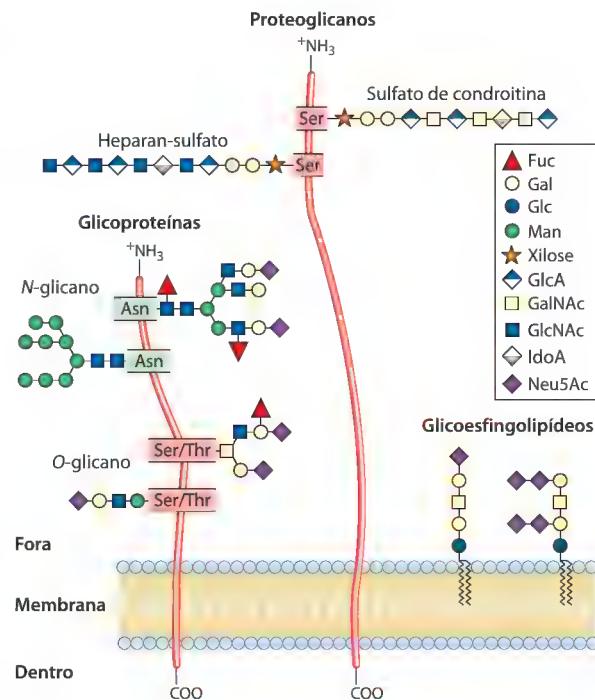


FIGURA 7-24 Glicoconjungados. As estruturas de alguns proteoglicanos, glicoproteínas e glicoesfingolipídeos típicos descritos no texto.

mando locais extremamente específicos para o reconhecimento e a ligação de alta afinidade por proteínas ligantes de carboidratos, chamadas de lectinas. Algumas proteínas citosólicas e nucleares também podem ser glicosiladas.

Os **glicoesfingolípideos** são componentes da membrana plasmática nos quais o grupo hidrofílico da cabeça é um oligossacarídeo. Como nas glicoproteínas, os oligossacarídeos servem como pontos específicos para o reconhecimento por lectinas. O cérebro e os neurônios são ricos em glicoesfingolípideos, os quais auxiliam na condução nervosa e na formação da mielina. Os glicoesfingolípideos também são importantes para a transdução de sinal celular. Esfingolípideos são discutidos em mais detalhes nos Capítulos 10 e 11.

Os proteoglicanos, macromoléculas presentes na superfície celular e na matriz extracelular, contêm glicosaminoglicanos

As células de mamíferos sintetizam 40 tipos de proteoglicanos. Essas moléculas agem como organizadores de tecidos e influenciam várias atividades celulares, como a ativação de fatores de crescimento e a adesão. A unidade básica dos proteoglicanos consiste em um “cerne proteico” (proteína central) com um ou mais glicosaminoglicanos covalentemente ligados. O ponto para a ligação é um resíduo de Ser, ao qual o glicosaminoglycano é unido por meio de uma ponte tetrassacarídica (Figura 7-25). O resíduo de Ser geralmente está na sequência —Ser—Gly—X—Gly— (em que X é um resíduo de aminoácido), embora nem todas as proteínas contendo essa sequência estejam ligadas a um glicosaminoglycano.

Muitos proteoglicanos são secretados para a MEC, mas alguns são proteínas integrais de membrana (ver Figura 11-7). Por exemplo, a fina camada da MEC que separa grupos organizados de células de outros grupos (a lâmina basal) contém uma família de proteínas centrais (M_r , 20.000 a 40.000), cada qual com algumas cadeias de heparan-sulfato ligadas. Existem duas famílias principais de proteoglicanos de membrana ligados a heparan-sulfata-

to. Os **sindecanos** têm um único domínio transmembrana e um domínio extracelular que liga entre três e cinco cadeias de heparan-sulfato e, em alguns casos, sulfato de condroitina (Figura 7-26a). Os **glipicanos** são ligados à membrana por uma âncora lipídica, um derivado do lípídeo de membrana fosfatidilinositol (ver Figura 11-15). Os sindecanos e os glipicanos podem ser liberados para o espaço extracelular. Uma protease da MEC capaz de clivar proteínas perto da superfície da membrana libera os ectodomínios de sindecanos (aqueles domínios externos à membrana plasmática), e uma fosfolipase que cliva a conexão com os lípideos da membrana libera os glipicanos. Esses mecanismos possibilitam que a célula altere rapidamente as características de sua superfície. Esse processo

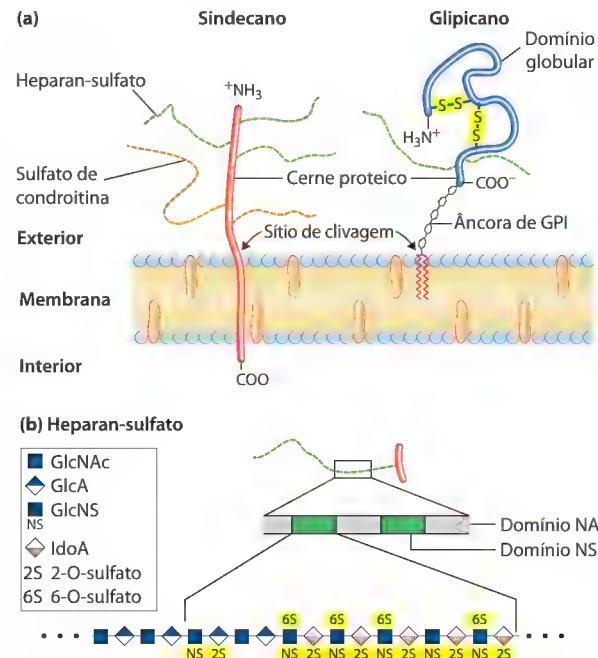


FIGURA 7-26 Duas famílias de proteoglicanos de membrana. (a) Diagramas esquemáticos de um sindecano e um glipcano na membrana plasmática. Os sindecanos, mantidos na membrana plasmática por interações hidrofóbicas entre uma sequência de resíduos de aminoácidos apolares e a membrana plasmática, podem ser liberados por meio de um único corte proteolítico perto da superfície da membrana. Em um sindecano típico, o domínio extracelular está covalentemente unido (por pontes tetrassacarídicas como as mostradas na Figura 7-25) a três cadeias de heparan-sulfato e duas cadeias de sulfato de condroitina. Os glipicanos são mantidos na membrana por meio de um lípídeo de membrana covalentemente ligado (âncora de GPI; ver Figura 11-15), porém são desprendidos se a ligação entre a porção lipídica da âncora de GPI e o oligossacarídeo ligado à proteína for clivada por uma fosfolipase. Todos os glipicanos têm 14 resíduos de Cys conservados, os quais formam ligações dissulfeto que estabilizam a porção proteica, e duas ou três cadeias de glicosaminoglicanos ligadas próximo ao carboxiterminal, em proximidade com a superfície da membrana. (b) Ao longo de uma cadeia de heparan-sulfato, as regiões ricas em açúcares sulfatados, os domínios NS (em verde) alternam-se com regiões que contêm principalmente resíduos de GlcNAc e GlcA não modificados, os domínios NA (em cinza). Um dos domínios NS está mostrado com mais detalhes para ilustrar a alta densidade dos resíduos modificados: GlcNS (*N*-sulfoglucosamina) com éster de sulfato no C-6, e GlcA e IdoA com éster de sulfato em C-2. O padrão de sulfatação exato dos domínios NS varia entre proteoglicanos.

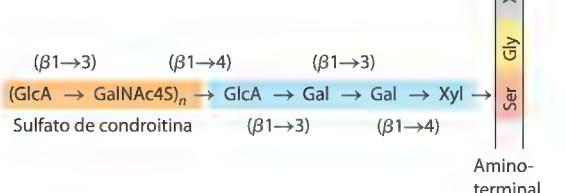


FIGURA 7-25 Estrutura dos proteoglicanos, mostrando a ponte tetrassacarídica. Tipica ligação tetrassacarídica (em azul) conecta um glicosaminoglycano – neste caso, 4-sulfato de condroitina (em cor de laranja) – a um resíduo de Ser do cerne proteico. O resíduo de xilose na extremidade reduzida do ligante é unido por meio do carbono anomérico ao grupo hidroxila do resíduo de Ser.

de alteração é altamente regulado e está ativado nas células em proliferação, tais como células cancerosas. A liberação dos proteoglicanos está envolvida no reconhecimento e na adesão intercelulares, e na proliferação e na diferenciação celulares. Numerosos proteoglicanos de sulfato de condroitina e dermatan-sulfato também existem, alguns como moléculas ligadas à membrana plasmática, outros como produtos secretados para a MEC.

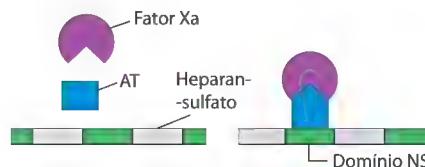
As cadeias de glicosaminoglicanos podem ligar uma variedade de ligantes extracelulares e, assim, modular a interação do ligante com receptores da superfície celular específicos. Estudos detalhados com heparan-sulfato demonstram que a estrutura dos domínios não é aleatória; alguns domínios (tipicamente com o comprimento de 3 a 8 unidades de dissacarídeo) diferem dos domínios vizinhos em sequência e capacidade de ligar proteínas específicas. Domínios altamente sulfatados (chamados de domínios NS) se alternam com domínios que têm resíduos de GlcNAc e GlcA não modificados (domínios *N*-acetilados ou NA) (Figura 7-26b). O padrão exato de sulfatação nos domínios NS depende especificamente do proteoglicano; dado o número de possíveis modificações do dímero GlcNAc-IdoA (ácido idurônico), são possíveis pelo menos 32 unidades de dissacarídeo diferentes. Além disso, a mesma proteína central pode apresentar diferentes estruturas de heparan-sulfato quando sintetizada em diferentes tipos celulares.

As moléculas de heparan-sulfato com domínios NS precisamente organizados se ligam especificamente a proteínas extracelulares e moléculas de sinalização, causando

modificação nas suas atividades, o que pode ser o resultado de uma alteração conformacional na proteína, induzida pela ligação (Figura 7-27a), ou ocorrer devido à capacidade de domínios adjacentes do heparan-sulfato de se ligarem a duas proteínas diferentes, aproximando-as e intensificando as interações proteína-proteína (Figura 7-27b). Um terceiro mecanismo de ação geral é a ligação de moléculas de sinalização extracelulares (fatores de crescimento, por exemplo) ao heparan-sulfato, aumentando a concentração local dessas moléculas e facilitando a interação com os receptores de fatores de crescimento na superfície celular; nesse caso, o heparan-sulfato age como correceptor (Figura 7-27c). Por exemplo, o fator de crescimento de fibroblastos (FGF), proteína sinalizadora extracelular que estimula a divisão celular, liga-se primeiramente à porção heparan-sulfato das moléculas de sindecano da membrana plasmática da célula-alvo. O sindecano apresenta o FGF ao seu receptor da membrana celular, de modo que apenas assim o FGF consegue interagir produtivamente com seu receptor para ativar a divisão celular. Finalmente, em outro tipo de mecanismo, os domínios NS interagem – eletrostaticamente e de outras maneiras – com diversas moléculas extracelulares solúveis, mantendo altas concentrações dessas moléculas na superfície celular (Figura 7-27d).

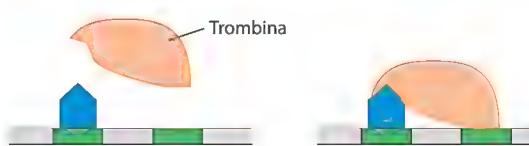
A importância de domínios sulfatados corretamente sintetizados no heparan-sulfato é demonstrada no camundongo mutante (“nocaute”) que carece da enzima que sulfata a hidroxila do C-2 do iduronato (IdoA). Esses animais nascem sem os rins e com anormalidades muito graves no desenvolvimento do esqueleto e dos olhos. Outros estudos

(a) Ativação conformacional



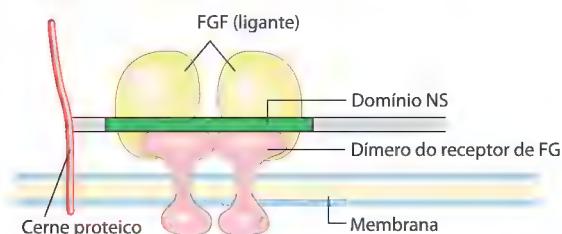
Uma mudança conformacional induzida na proteína antitrombina (AT) após sua ligação a um pentassacarídeo específico no domínio NS permite a interação de AT com o fator Xa da coagulação sanguínea, impedindo a coagulação.

(b) Intensificação da interação proteína-proteína



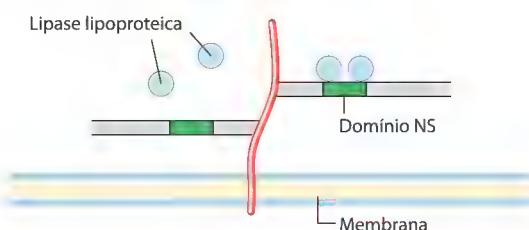
A ligação de AT e trombina a dois domínios NS adjacentes aproxima as duas proteínas e favorece sua interação, o que inibe a coagulação sanguínea.

(c) Correceptor para ligantes extracelulares



Os domínios NS interagem tanto com o fator de crescimento de fibroblastos (FGF) quanto com seu receptor, unindo o complexo oligomérico e aumentando a eficácia de baixas concentrações de FGF.

(d) Localização/concentração na superfície celular



A alta densidade de cargas negativas do heparan-sulfato atrai as moléculas de lipase lipoproteica positivamente carregadas e as retém por meio de interações eletrostáticas e interações de sequência específicas destas com os domínios NS.

FIGURA 7-27 Quatro tipos de proteínas que interagem com os domínios NS do heparan-sulfato.



mostram que proteoglicanos de membrana são importantes para a depuração de lipoproteínas no fígado. Existem evidências crescentes que a rota escolhida pelos axônios em desenvolvimento no sistema nervoso – o circuito neuronal – é influenciada por proteoglicanos contendo heparan-sulfato e sulfato de condroitina, os quais fornecem indicações direcionais para o crescimento do axônio.

Alguns proteoglicanos podem formar **agregados proteoglicanos**, enormes grupos supramoleculares de muitas proteínas centrais, todas ligadas a uma única molécula de ácido hialurônico. A proteína central agrecana ($M_r \sim 250.000$) tem múltiplas cadeias de sulfato de condroitina e queratan-sulfato unidas a resíduos de Ser da proteína central por meio de ligações trissacáridicas, gerando um monômero de agrecano com $M_r \sim 2 \times 10^6$. Quando centenas ou mais dessas proteínas centrais “decoradas” se ligam a uma única molécula estendida de hialuronato (Figura 7-28), o agregado proteoglicano resultante ($M_r > 2 \times 10^8$) e a água de hidratação associada ocupam aproximadamente o mesmo volume de uma célula bacteriana! O agrecano interage fortemente com o colágeno da matriz extracelular das cartilagens, contribuindo para o desenvolvimento, a resistência à tensão e a elasticidade desse tecido conectivo.

Entrelaçadas com esses enormes proteoglicanos extracelulares estão as proteínas fibrosas da matriz, como colágeno, elastina e fibronectina, formando uma rede de ligações cruzadas que garantem força e elasticidade à toda

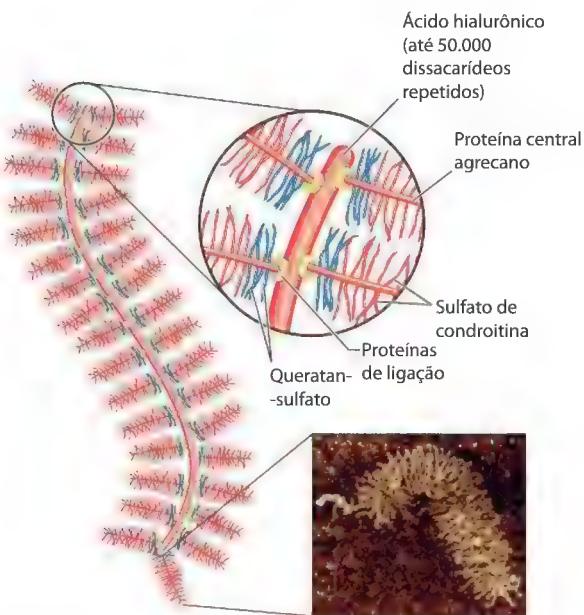


FIGURA 7-28 Agregado proteoglicano da matriz extracelular. Desenho esquemático de um proteoglicano com muitas moléculas de agrecano. Uma molécula muito longa de ácido hialurônico está associada não covalentemente com cerca de 100 moléculas da proteína central agrecano. Cada molécula de agrecano contém muitas cadeias de sulfato de condroitina e queratan-sulfato ligadas covalentemente. Proteínas de ligação nas junções entre cada proteína central e o esqueleto do ácido hialurônico controlam a interação proteína central-ácido hialurônico. A micrografia mostra uma única molécula de agrecano, visualizada com um microscópio de força atômica (ver Quadro 19-2).

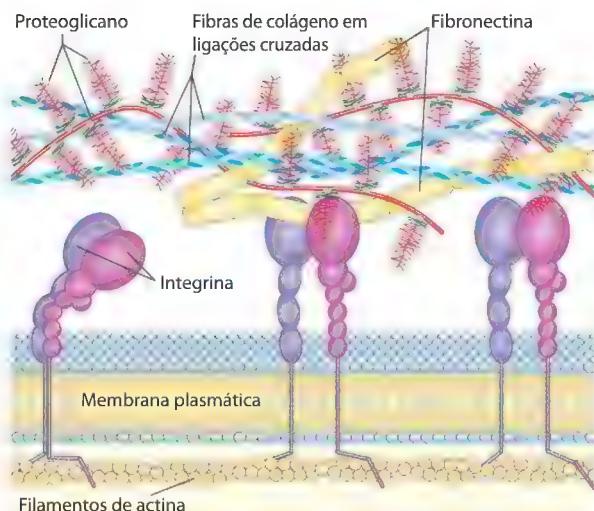


FIGURA 7-29 Interações entre as células e a matriz extracelular. A associação entre as células e os proteoglicanos da matriz extracelular é mediada por uma proteína de membrana (integrina) e por uma proteína extracelular (fibronectina, neste exemplo) que tem sítios de ligação tanto para integrina quanto para proteoglicano. Observe a proximidade na associação das fibras de colágeno com a fibronectina e o proteoglicano.

a matriz extracelular. Algumas dessas proteínas são multia-desivas, uma única proteína possui sítios de ligação para diferentes moléculas da matriz. A fibronectina, por exemplo, tem domínios separados que ligam fibrina, heparan-sulfato, colágeno e uma família de proteínas da membrana plasmática chamadas de integrinas, que controlam a sinalização entre o interior celular e a matriz extracelular (ver Figura 12-29). O quadro geral de interações célula-matriz que emerge (Figura 7-29) mostra um arranjo de interações entre moléculas celulares e extracelulares. Essas interações não servem meramente para a ancoragem das células à matriz extracelular, mas também proveem rotas que guiam a migração celular nos tecidos em desenvolvimento e propagam informações em ambas as direções através da membrana plasmática.

Glicoproteínas têm oligossacáideos ligados covalentemente

Glicoproteínas são conjugados carboidrato-proteína nos quais os glicanos são menores, ramificados e mais estruturalmente diversos do que os gigantescos glicosaminoglicanos dos proteoglicanos. O carboidrato é ligado por meio de seu carbono anomérico por uma ligação glicosídica com o $-OH$ de um resíduo de Ser ou Thr (*O*-ligado) ou por uma ligação *N*-glicosil com o nitrogênio da amida de um resíduo de Asn (*N*-ligado) (Figura 7-30). Algumas glicoproteínas têm uma única cadeia de oligossacáideo, porém muitas têm mais de uma; o carboidrato pode constituir de 1 a 70% ou mais da massa da glicoproteína. Aproximadamente metade de todas as proteínas de mamíferos é glicosilada, e cerca de 1% de todos os genes de mamíferos codifica para enzimas envolvidas na síntese e na ligação dessas cadeias de oligossacáideos. Oligossacáideos *N*-ligados são geral-

mente encontrados na sequência de consenso N-[P]-[ST]; nem todos os sítios potenciais são utilizados. (Consulte o Quadro 3-2 para convenções da representação de sequências de consenso). Aparentemente, não existe uma sequência consenso específica para os oligossacarídeos *O*-ligados, embora as regiões apresentando cadeias *O*-ligadas tendam a ser ricas em resíduos de Gly, Val e Pro.

Uma classe peculiar de glicoproteínas é encontrada no citoplasma e no núcleo; nessas proteínas, as posições glicosiladas contêm somente resíduos únicos de *N*-acetilglucosamina em ligações *O*-glicosídicas com o grupo hidroxila das cadeias laterais de Ser. Essa modificação é reversível e ocorre frequentemente nos mesmos resíduos de Ser que serão fosforilados em algum estágio da atividade proteica. As duas modificações são mutuamente exclusivas e este tipo de glicosilação é importante para a regulação da atividade das proteínas. Discute-se a fosforilação de proteínas amplamente no Capítulo 12.

Como será visto no Capítulo 11, a superfície externa da membrana plasmática tem muitas glicoproteínas de membrana, as quais contêm arranjos de oligossacarídeos cova-

lentemente ligados de complexidade variada. As **mucinas** são glicoproteínas de membrana ou secretadas que podem conter grandes números de cadeias de oligossacarídeos *O*-ligadas. Estão presentes na maioria das secreções, sendo responsáveis pela característica escorregadia do muco.

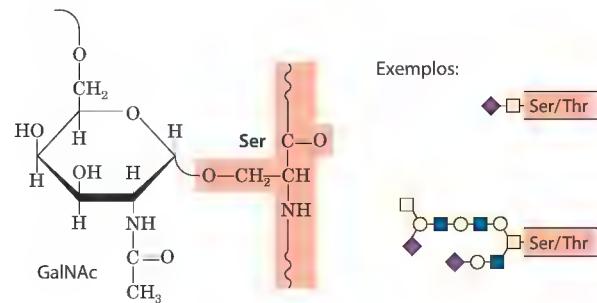
A caracterização sistemática de todos os carboidratos componentes de uma determinada célula ou tecido, incluindo aqueles ligados a proteínas ou lipídeos, é chamada de **glicômica**. Para as glicoproteínas, isso também significa determinar quais proteínas são glicosiladas e onde, na sequência de aminoácidos, cada oligossacarídeo está ligado. É um trabalho desafiador, mas valoroso pelo potencial da compreensão dos padrões normais de glicosilação e das formas nas quais eles podem ser alterados durante o desenvolvimento, em doenças genéticas ou em câncer. Os métodos atuais para a caracterização da totalidade dos carboidratos das células dependem muito de aplicações sofisticadas de espectrometria de massas (ver Figura 7-39).

As estruturas de um grande número de oligossacarídeos *O* e *N*-ligados de diversas glicoproteínas são conhecidas; as Figuras 7-24 e 7-30 apresentam alguns exemplos típicos. Serão discutidos os mecanismos por meio dos quais proteínas específicas adquirem porções oligossacáridicas no Capítulo 27.

Muitas das proteínas secretadas por células eucarióticas são glicoproteínas, incluindo a maioria das proteínas do sangue. Por exemplo, as imunoglobulinas (anticorpos) e certos hormônios, como o hormônio fólico-estimulante, o hormônio luteinizante e o hormônio estimulante da tireoide, são glicoproteínas. Muitas proteínas do leite, incluindo a principal proteína do soro do leite, α -lactalbumina, e algumas das proteínas secretadas pelo pâncreas, como a ribonuclease, são glicosiladas, assim como a maioria das proteínas contidas nos lisossomos.

Aos poucos, as vantagens biológicas da adição de oligossacarídeos a proteínas estão sendo descobertas. Os agrupamentos altamente hidrofílicos de carboidratos alteram a polaridade e a solubilidade das proteínas com as quais estão conjugados. Cadeias de oligossacarídeos ligadas a proteínas que foram recentemente sintetizadas no retículo endoplasmático (RE) e trabalhadas no aparelho de Golgi servem como marcadores do destino da proteína (ver Figura 27-39) e também para o controle da qualidade proteica, marcando proteínas mal dobradas para a degradação (ver Figura 27-40). Quando numerosas cadeias de oligossacarídeos negativamente carregadas se agrupam em uma única região de uma proteína, a repulsão de cargas entre elas favorece a formação de uma estrutura estendida, em forma de bastão, naquela região. O volume e a carga negativa das cadeias de oligossacarídeos também protegem algumas proteínas do ataque por enzimas proteolíticas. Além desses efeitos físicos gerais sobre a estrutura das proteínas, também existem efeitos biológicos específicos induzidos pelas cadeias de oligossacarídeos em glicoproteínas (Seção 7.4). A importância da glicosilação em proteínas torna-se evidente com a descoberta de pelo menos 18 diferentes distúrbios genéticos que afetam a glicosilação em humanos. Todos esses distúrbios causam graves problemas no desenvolvimento físico ou mental, sendo às vezes fatal para o indivíduo.

(a) *O*-ligados



(b) *N*-ligados

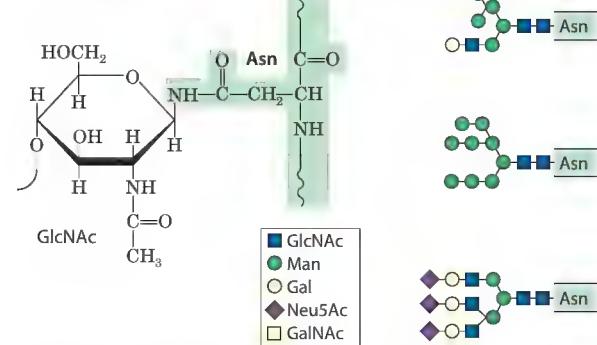


FIGURA 7-30 Ligação de oligossacarídeos a glicoproteínas. (a) Os oligossacarídeos *O*-ligados formam uma ligação glicosídica com o grupo hidroxila de resíduos de Ser ou Thr (em vermelho); a ligação ilustrada aqui apresenta GalNAc como o açúcar da extremidade redutora do oligossacarídeo. Uma cadeia simples e uma cadeia complexa estão mostradas. (b) Os oligossacarídeos *N*-ligados formam uma ligação *N*-glicosil com o nitrogênio da amida de um resíduo de Asn (em verde); a ligação ilustrada aqui tem GlcNAc como o açúcar terminal. Três tipos comuns de cadeias de oligossacarídeos *N*-ligados em glicoproteínas estão mostrados. Uma descrição completa da estrutura do oligossacarídeo requer a especificação da posição e da estereoquímica (α ou β) de cada ligação glicosídica.



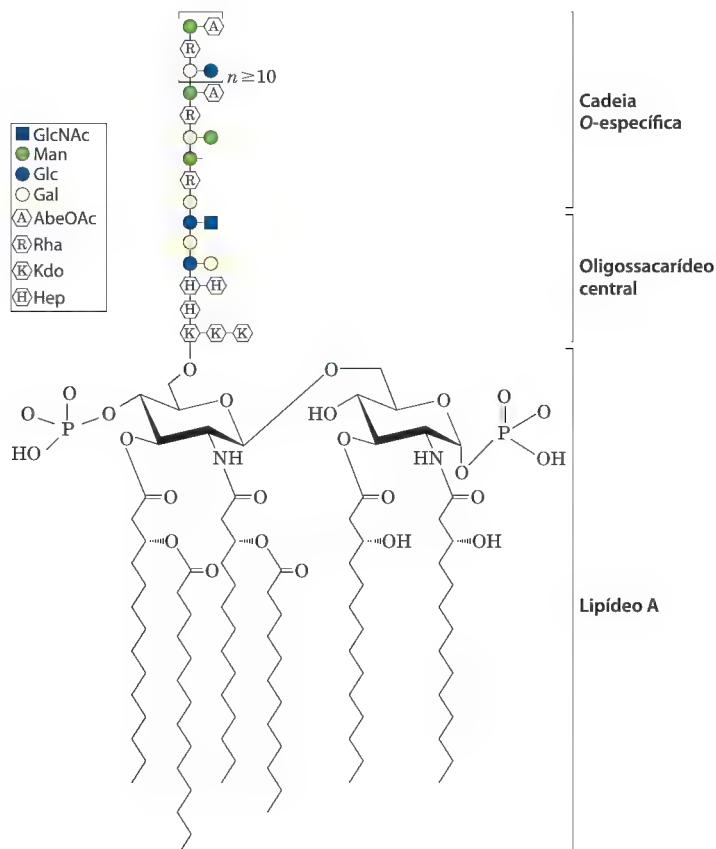


FIGURA 7-31 Lipopolissacarídeos bacterianos. Diagrama esquemático do lipopolissacarídeo da membrana externa de *Salmonella typhimurium*. Kdo é o ácido 3-desóxi-d-mano-octulosônico (antes chamado de ácido cetodesóxi-octônico); Hep é L-glicero-d-mano-heptose; AbeOAc é abequose (uma 3,6-didesoxihexose) acetilada em uma de suas hidroxilas. Existem seis resíduos de ácidos graxos na porção lipídeo A da molécula. Diferentes espécies bacterianas têm estruturas de lipopolissacarídeos sutilmente diferentes, embora tenham em comum uma região lipídica (lipídeo A), também conhecida como endotoxina, oligossacarídeo central e uma cadeia “O-específica”, o principal determinante do sorotipo (reatividade imunológica) da bactéria. As membranas externas das bactérias gram-negativas *S. typhimurium* e *E. coli* contêm tantas moléculas de lipopolissacarídeos que a superfície celular é praticamente coberta com cadeias O-específicas.

Glicolipídeos e lipopolissacarídeos são componentes de membranas

As glicoproteínas não são os únicos componentes celulares que exibem cadeias de oligossacarídeos; alguns lipídeos também têm oligossacarídeos covalentemente ligados. Os **gangliosídeos** são lipídeos de membrana das células eucarióticas nos quais o grupo polar, a parte do lipídeo que forma a superfície externa da membrana, é um oligossacarídeo complexo contendo ácido siálico (Figura 7-9) e outros resíduos de monossacarídeos. Algumas das porções oligossacáridicas dos gangliosídeos, como aquelas que determinam os grupos sanguíneos humanos (ver Figura 10-15), são idênticas àquelas encontradas em certas glicoproteínas, as quais, portanto, também contribuem para o tipo do grupo sanguíneo. Assim como as porções oligossacáridicas das glicoproteínas, aquelas dos lipídeos de membrana são encontradas comumente, talvez sempre, na superfície externa da membrana plasmática.

 **Lipopolissacarídeos** são as moléculas dominantes da superfície da membrana externa de bactérias gram-negativas, como *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*. Essas moléculas são o alvo primordial dos anticorpos produzidos pelo sistema imune dos vertebrados em resposta a uma infecção bacteriana e, por essa razão, são importantes na determinação dos sorotipos das linhagens bacterianas (sorotipos são linhagens distintas pelas

propriedades antigênicas). Os lipopolissacarídeos de *S. typhimurium* contêm seis ácidos graxos ligados a dois resíduos de glicosamina, um dos quais é o ponto de ligação para um oligossacarídeo complexo (Figura 7-31). *E. coli* tem lipopolissacarídeos similares, porém exclusivos. A porção lipídeo A dos lipopolissacarídeos de algumas bactérias é chamada de endotoxina; sua toxicidade para humanos e outros animais é responsável pela pressão sanguínea perigosamente baixa que ocorre na síndrome do choque tóxico resultante de infecções por bactérias gram-negativas. ■

RESUMO 7.3 Glicoconjungados: proteoglicanos, glicoproteínas e glicoesfingolipídeos

- Os proteoglicanos são glicoconjungados nos quais um ou mais glicanos grandes, chamados de glicosaminoglicanos sulfatados (heparan-sulfato, sulfato de condroitina, dermatan-sulfato ou queratan-sulfato) estão covalentemente ligados a uma proteína central. Unidos à superfície externa da membrana plasmática por meio de um peptídeo transmembrana ou um lipídeo ligado covalentemente, os proteoglicanos fornecem pontos de adesão, reconhecimento e transferência de informação entre as células ou entre as células e a matriz extracelular.
- As glicoproteínas contêm oligossacarídeos covalentemente ligados a resíduos de Asp ou Ser/Thr. Em geral,

os glicanos são ramificados e menores do que os glicosaminoglicanos. Muitas proteínas extracelulares ou da superfície celular são glicoproteínas, assim como a maioria das proteínas secretadas. Os oligossacarídeos covalentemente ligados influenciam o enovelamento e a estabilidade das proteínas, fornecem informações cruciais sobre o destino de proteínas recentemente sintetizadas e permitem o reconhecimento específico por outras proteínas.

- A glicônica é a determinação da totalidade das moléculas contendo açúcar em uma célula ou tecido, assim como a determinação da função de cada uma dessas moléculas.
- Glicolipídeos e glicoesfingolipídeos em plantas e animais e lipopolissacarídeos em bactérias são componentes do envelope celular com cadeias de oligossacarídeos expostas na superfície externa da célula.

7.4 Carboidratos como moléculas informativas: o código dos açúcares

A glicobiologia, o estudo da estrutura e da função de glicocconjungados, é uma das mais ativas e excitantes áreas da bioquímica e da biologia celular. Cada vez fica mais claro que as células utilizam oligossacarídeos específicos para codificar importantes informações sobre o destino de proteínas, as interações célula-célula, a diferenciação celular e o desenvolvimento de tecidos, além de os utilizarem como sinais extracelulares. A presente discussão utiliza somente alguns exemplos para ilustrar a diversidade de estruturas e o alcance de atividades biológicas dos glicocconjungados. No Capítulo 20, será discutida a biossíntese de polissacarídeos, incluindo os peptidoglicanos, e no Capítulo 27, a associação de cadeias de oligossacarídeos a glicoproteínas.

O aprimoramento dos métodos para a análise da estrutura de oligossacarídeos e polissacarídeos tem revelado a extraordinária complexidade e diversidade dos oligossacarídeos de glicoproteínas e glicolipídeos. Considere as cadeias de oligossacarídeos da Figura 7-30, típicas daquelas encontradas em muitas glicoproteínas. A mais complexa delas contém 14 resíduos de monossacarídeos de quatro tipos diferentes, variadamente ligados como (1→2), (1→3), (1→4), (1→6), (2→3) e (2→6), alguns com configuração α e alguns com configuração β . Estruturas ramificadas, não encontradas em ácidos nucleicos ou proteínas, são comuns em oligossacarídeos. Com a suposição razoável de que 20 subunidades de monossacarídeos diferentes estão disponíveis para a construção de oligossacarídeos, estima-se que muitos bilhões de oligossacarídeos hexaméricos diferentes sejam possíveis; isso se compara com 6.4×10^7 (20^6) diferentes hexapeptídeos possíveis com os 20 aminoácidos comuns, e 4.096 (4^6) diferentes hexanucleotídeos possíveis com as quatro subunidades nucleotídicas. Se permitirmos também as variações em oligossacarídeos resultantes da sulfatação de um ou mais dos resíduos, o número de oligossacarídeos possíveis aumenta em duas ordens de magnitude. Na realidade, apenas um subconjunto das possíveis combi-

nações é encontrado, devido às restrições impostas por enzimas biossintéticas e disponibilidade de precursores. Ainda assim, a enorme riqueza de informações na estrutura dos glicanos não somente compete com a dos ácidos nucleicos na densidade de informações contidas em uma molécula de tamanho modesto, mas também a supera em muito. Cada um dos oligossacarídeos representados nas Figuras 7-24 e 7-30 têm configuração tridimensional única – uma palavra no código dos açúcares – e legível para as proteínas com as quais eles interagem.

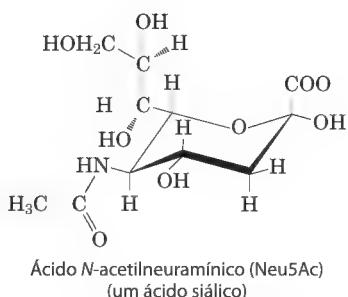
Lectinas são proteínas que leem o código dos açúcares e controlam muitos processos biológicos

As **lectinas**, encontradas em todos os organismos, são proteínas que ligam carboidratos com alta especificidade e com moderada a alta afinidade. Participam de vários processos de reconhecimento celular, sinalização e adesão e na destinação intracelular de proteínas recentemente sintetizadas. As lectinas de plantas, abundantes em sementes, provavelmente atuam como restringentes para insetos e outros predadores. No laboratório, lectinas vegetais purificadas são reagentes úteis para a detecção e a separação de glicanos e glicoproteínas ligados a diferentes oligossacarídeos. Aqui, serão discutidos apenas alguns exemplos dos papéis das lectinas em células animais.

Alguns hormônios peptídicos que circulam no sangue estão ligados a oligossacarídeos que influenciam fortemente suas meias-vidas na circulação. Os hormônios luteinizante e tireotropina (hormônios peptídicos produzidos na hipófise) têm oligossacarídeos *N*-ligados que terminam com o dissacarídeo GalNAc4S(β 1→4)GlcNAc, reconhecido por uma lectina (receptor) em hepatócitos. (GalNAc4S é uma *N*-acetilgalactosamina sulfatada no grupo —OH do C-4.) A interação receptor-hormônio é responsável por mediar a internalização e a destruição dos hormônios luteinizante e tireotropina, reduzindo suas concentrações no sangue. Consequentemente, os níveis sanguíneos desses hormônios passam por periódicas ascensões (devidas à secreção pulsátil pela hipófise) e quedas (devidas à destruição contínua pelos hepatócitos).

Os resíduos de Neu5Ac (um ácido siálico) situados nas extremidades das cadeias de oligossacarídeos de muitas glicoproteínas do plasma (Figura 7-24) protegem essas proteínas da captação e da degradação no fígado. Por exemplo, a ceruloplasmina, glicoproteína sérica que contém cobre, tem algumas cadeias de oligossacarídeo terminando com Neu5Ac. O mecanismo que remove os resíduos de ácido siálico de glicoproteínas séricas não está claro. A remoção pode ser causada pela atividade da enzima neuraminidase (também chamada desialidase) produzida por organismos invasores ou pela remoção lenta e constante por enzimas extracelulares. A membrana plasmática dos hepatócitos possui moléculas de lectinas (receptoras para assialoglicoproteínas; “assialo” significando “sem ácido siálico”) que se ligam especificamente a cadeias de oligossacarídeos com resíduos de galactose não mais “protegidos” por um resíduo terminal de Neu5Ac. A interação receptor-ceruloplasmina desencadeia a endocitose e a destruição de ceruloplasmina.





Um mecanismo similar é aparentemente responsável pela remoção de eritrócitos “velhos” da corrente sanguínea em mamíferos. Eritrócitos sintetizados recentemente têm algumas glicoproteínas de membrana com cadeias de oligossacarídeos que terminam em Neu5Ac. Quando os resíduos de ácido siálico são removidos – coletando-se uma amostra de sangue de cobaias, tratando-a com neuraminidase *in vitro* e reintroduzindo-a na circulação –, os eritrócitos tratados desaparecem da circulação em poucas horas; eritrócitos com oligossacarídeos intactos (coletados e reintroduzidos, sem tratamento com neuraminidase) continuam a circular por dias.

 Lectinas da superfície celular são importantes no desenvolvimento de algumas doenças humanas – tanto as lectinas humanas quanto aquelas dos agentes infecciosos. As **selectinas** compõem uma família de lectinas da membrana plasmática que controlam o reconhecimento e a adesão célula-célula em diversos processos celulares. Um desses processos é o movimento das células do sistema imune (leucócitos) através da parede dos capilares, do sangue para os tecidos, em sitos de infecção ou inflamação (**Figura 7-32**). Em um sítio de infecção, a selectina-P da superfície das células endoteliais dos capilares interage

com um oligossacarídeo específico das glicoproteínas da superfície dos leucócitos circulantes. Essa interação desacelera os leucócitos, que rolam sobre o revestimento endotelial dos capilares. Uma segunda interação, entre moléculas de integrina (p. 470) da membrana plasmática dos leucócitos e uma proteína de adesão da superfície das células endoteliais, detém o leucócito e permite que ele atravesse a parede do capilar, entrando nos tecidos infectados para iniciar o ataque imune. Duas outras selectinas participam dessa “migração dos linfócitos”: a selectina-E da célula endotelial e a selectina-L do leucócito ligam-se aos oligossacarídeos correspondentes em leucócitos e células endoteliais, respectivamente.

Como as selectinas de humanos controlam as respostas inflamatórias na artrite reumatoide, asma, psoríase, esclerose múltipla e rejeição de órgãos transplantados, existe um grande interesse no desenvolvimento de fármacos que inibam a adesão celular mediada por selectinas. Muitos carcinomas expressam um antígeno normalmente presente apenas em células fetais (sialil Lewis x ou sialil Le^x), o qual, quando liberado na circulação, facilita a sobrevivência e a metástase das células tumorais. Derivados de carboidratos que mimetizam a porção sialil Le^x de sialoglicoproteínas ou que alteram a biossíntese deste oligossacarídeo podem tornar-se fármacos específicos para selectinas eficazes no tratamento de inflamações crônicas ou doenças metastáticas.

Alguns vírus que infectam animais, incluindo o vírus influenza, aderem às células hospedeiras por meio de interações com os oligossacarídeos apresentados na superfície dessas células. A lectina do vírus influenza, conhecida como proteína HA (hemaglutinina), é essencial para a entrada e a infecção viral. Após a entrada e a replicação do vírus em uma célula hospedeira, as partículas virais sintetizadas recentemente deixam a célula hospedeira envolvidas em uma porção da membrana plasmática. Uma sialidase (neurami-

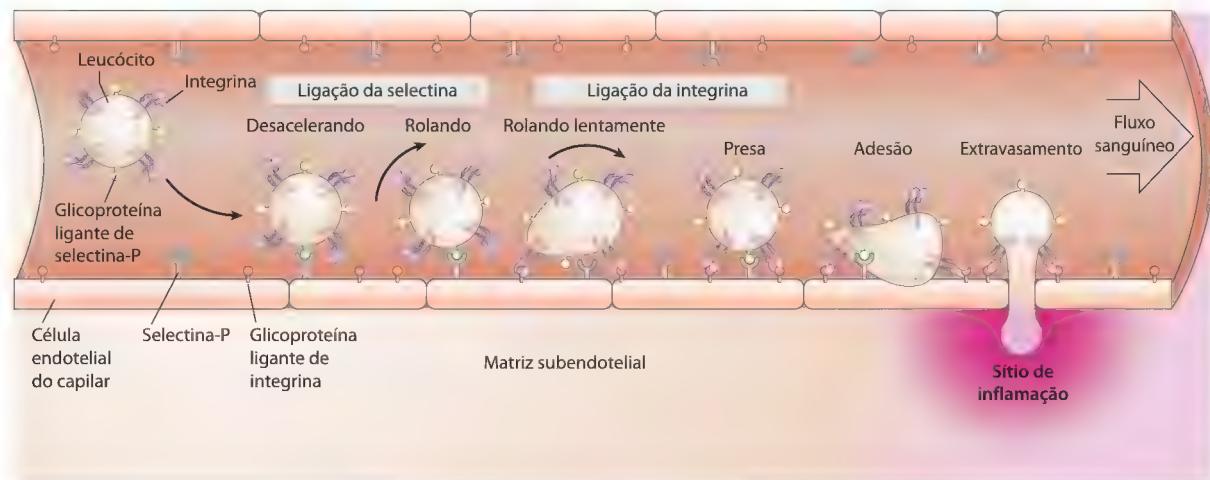
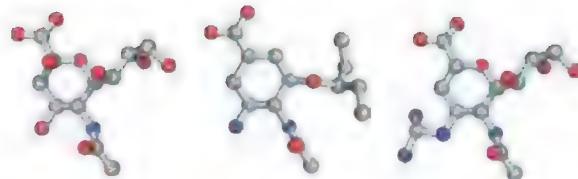


FIGURA 7-32 Função das interações lectina-ligante durante a movimentação de leucócitos para um sítio de infecção ou ferimento. Um leucócito movendo-se ao longo de um capilar é desacelerado por interações transitórias entre moléculas de selectina-P da membrana plasmática das células endoteliais do capilar e glicoproteínas ligantes de selectina-P da superfície do leucócito. Por interagir com moléculas de selectina-P consecutivas, o

leucócito rola sobre a superfície do capilar. Próximo a um sítio de inflamação, interações mais fortes entre integrinas da superfície do leucócito e seus ligantes na superfície do capilar levam a uma adesão firme. O leucócito para de rolar e, sob a influência de sinais enviados a partir do sítio de inflamação, começa a extravasar – escapar através da parede do capilar –, movendo-se em direção ao sítio de inflamação.



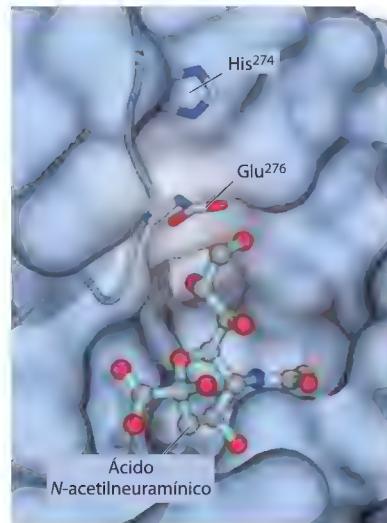


Ácido
N-acetilneuramínico

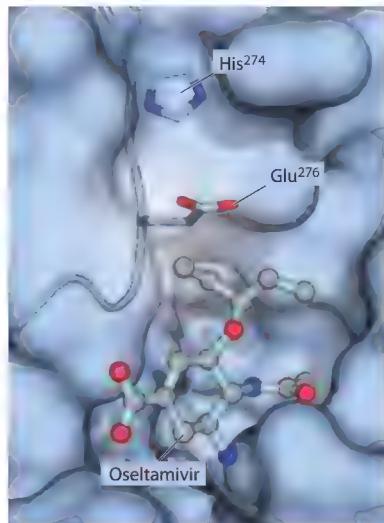
Oseltamivir

Zanamivir

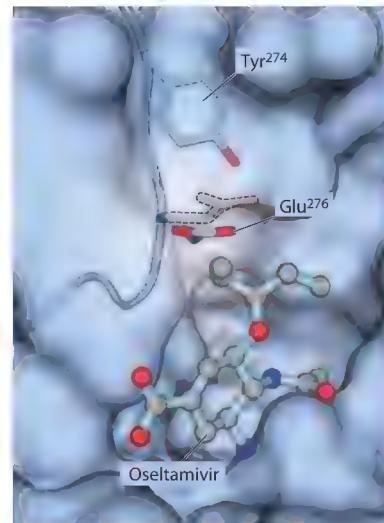
(a)



(b)



(c)



(d)

FIGURA 7-33 O sítio de ligação para o ácido N-acetilneuramínico e para o fármaco antiviral oseltamivir na neuraminidase do vírus da influenza. (a) O ligante normal desta enzima é um ácido siálico, o ácido N-acetilneuramínico. Os fármacos oseltamivir e zanamivir ocupam o mesmo sítio da enzima, competitivamente inibindo-a e bloqueando a liberação do vírus pela célula hospedeira. (b) A interação normal com o ácido N-acetilneuramínico no sítio de ligação (PDB ID 2BAT). (c) O oseltamivir consegue

encaixar-se neste sítio empurrando um resíduo de Glu para fora (PDB ID 2HU4). (d) Uma mutação no gene da neuraminidase do vírus influenza troca uma His próxima a este resíduo de Glu pela cadeia lateral maior de uma Tyr (PDB ID 3CL0). Agora, o oseltamivir não consegue empurrar o resíduo de Glu de maneira tão eficaz, e liga-se muito menos de maneira eficiente ao sítio de ligação, o que torna o vírus mutante efetivamente resistente ao oseltamivir.

nidase) viral remove o resíduo de ácido siálico terminal dos oligossacarídeos da célula hospedeira, liberando as partículas virais da interação com a célula e evitando a agregação de uma partícula com a outra. Outro ciclo de infecção pode, então, começar. Os fármacos antivirais oseltamivir (Tamiflu) e zanamivir (Relenza), utilizados clinicamente no tratamento da influenza, são análogos de açúcar e inibem a sialidase viral por competirem com os oligossacarídeos da célula hospedeira pela ligação à sialidase (Figura 7-33). Isso impede a liberação do vírus da célula infectada e também causa a agregação das partículas virais, efeitos que evitam um novo ciclo de infecção.

Alguns patógenos microbianos têm lectinas que controlam a adesão bacteriana às células hospedeiras ou a entrada de toxinas para dentro das células. Por exemplo, a bactéria *Helicobacter pylori* tem uma lectina em sua superfície que adere a oligossacarídeos da superfície interna do estômago (Figura 7-34). Entre os sítios de ligação reconhecidos pela lectina da *H. pylori* está o oligossacarídeo Lewis b (Le^b), presente nas glicoproteínas e glicolipídeos que definem o

determinante do grupo sanguíneo do tipo O (ver Figura 10-15). Essa observação ajuda a explicar o grau algumas vezes maior de incidência de úlceras gástricas em pessoas



FIGURA 7-34 O desenvolvimento de uma úlcera. Células de *Helicobacter pylori* se aderindo à superfície gástrica. Essa bactéria causa úlceras por meio das interações entre uma lectina da superfície bacteriana e o oligossacarídeo Le^b (antígeno de grupo sanguíneo) das células epiteliais que revestem a superfície interna do estômago.



do tipo sanguíneo O do que naquelas do tipo A ou B; a *H. pylori* ataca as células epiteliais dessas pessoas de maneira mais eficiente. Análogos de oligossacarídeo Le^b podem mostrar-se úteis para o tratamento desse tipo de úlcera. Administrados oralmente, eles poderiam prevenir a adesão bacteriana (e, portanto, a infecção) por competirem com as glicoproteínas gástricas pela ligação à lectina bacteriana.

Algumas das mais devastadoras doenças parasitárias humanas, disseminadas em grande parte dos países em desenvolvimento, são causadas por microrganismos eucarióticos que apresentam na superfície oligossacarídeos incomuns, que em alguns casos protegem os parasitas. Entre esses organismos estão os tripanossomos, responsáveis pela doença do sono africana e a doença de Chagas (ver Quadro 6-3); *Plasmodium falciparum*, o parasita da malária; e *Entamoeba histolytica*, o agente causador da disenteria amebóide. A expectativa do descobrimento de fármacos que interfiram com a síntese das cadeias desses oligossacarídeos incomuns e, dessa maneira, com a replicação dos parasitas, tem recentemente inspirado muitos trabalhos sobre as rotas de biossíntese destes oligossacarídeos. ■

As lectinas também agem intracelularmente, endereçando proteínas para seu transporte a localizações celulares específicas (ver Capítulo 27). Por exemplo, um oligossacarídeo contendo manose-6-fosfato, reconhecido por uma lectina, marca proteínas recém-sintetizadas no aparelho de Golgi para sua transferência ao lisossomo (ver Figura 27-39).

As interações lectina-carboidrato são altamente específicas e frequentemente multivalentes

A alta densidade de informações contida na estrutura dos oligossacarídeos proporciona um código de açúcares com um número ilimitado de “palavras”, pequenas o suficiente

para serem lidas por uma única proteína. Nos sítios de ligação a carboidratos, as lectinas têm uma requintada complementaridade molecular que permite a interação somente com os carboidratos correspondentes corretos. O resultado é uma especificidade extremamente alta nessas interações. A afinidade entre um oligossacarídeo e um domínio individual de ligação a carboidratos (DLC) de uma lectina é, algumas vezes, modesta (valores de K_d entre micromolar e milimolar), mas a afinidade real é, em muitos casos, notavelmente aumentada pela multivalência da lectina, na qual uma única molécula de lectina tem múltiplos DLC. Em um agrupamento de oligossacarídeos – como comumente encontrado em uma superfície de membrana, por exemplo –, cada oligossacarídeo pode ocupar um dos DLC da lectina, fortalecendo a interação. Quando as células expressam múltiplas lectinas, a força da interação pode ser muito alta, possibilitando eventos altamente cooperativos, como a adesão e o rolamento da célula (Figura 7-32).

Estudos cristalográficos por raios X da estrutura da lectina receptora de manose-6-fosfato revelam detalhes de sua interação com a manose-6-fosfato que explicam a especificidade da ligação e a função de um cátion divalente na interação lectina-açúcar (Figura 7-35a). A His¹⁰⁵ está formando ligações de hidrogênio com um dos átomos de oxigênio do fosfato (Figura 7-35b). Quando a proteína marcada com manose-6-fosfato chega ao lisossomo (que tem um pH interno menor do que o do complexo de Golgi), o receptor perde a afinidade pela manose-6-fosfato. A protonação da His¹⁰⁵ pode ser responsável por esta alteração na ligação.

Além dessas interações extremamente específicas, existem interações mais gerais que também contribuem para a ligação de muitos carboidratos às respectivas lectinas. Por exemplo, muitos açúcares têm um lado mais polar e um

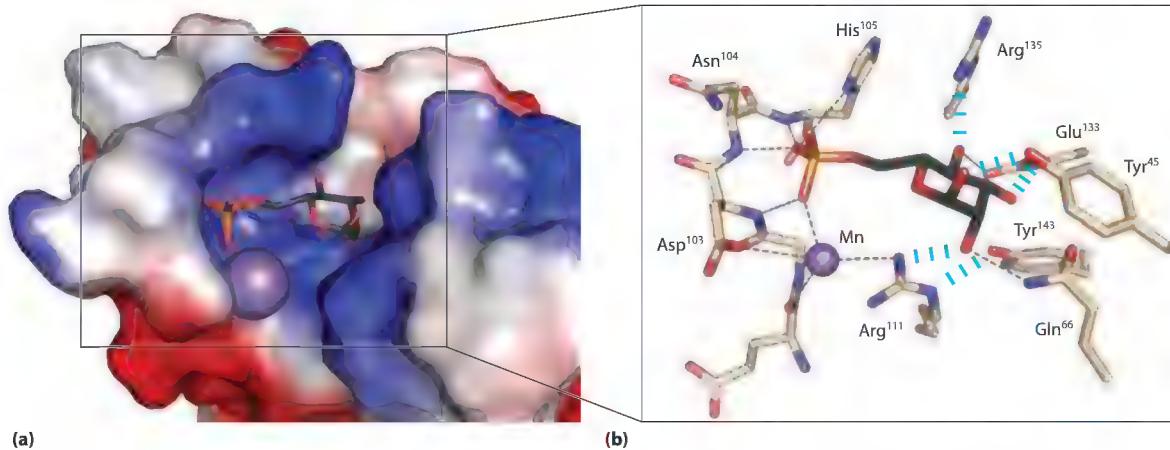


FIGURA 7-35 Detalhes de uma interação lectina-carboidrato. (a) Estrutura do receptor de manose-6-fosfato bovino em complexo com manose-6-fosfato (PDB ID 1M6P). A proteína está representada pela imagem de contorno da superfície, mostrando a superfície com predominância de carga negativa (em vermelho) ou positiva (em azul). A manose-6-fosfato está representada por uma estrutura em bastão; um íon manganês está representado por uma esfera violeta. (b) Uma visão ampliada do sítio de ligação. A

manose-6-fosfato é unida por ligações de hidrogênio à Arg¹¹¹ e coordenada ao íon manganês (mostrado com o menor raio de van der Waals para maior clareza). Cada grupo hidroxila da manose é unido à proteína por meio de ligações de hidrogênio. A His¹⁰⁵, que forma ligações de hidrogênio com o oxigênio do fosfato da manose, pode ser o resíduo que, quando protonado em baixo pH, induz o receptor a liberar a manose-6-fosfato dentro do lisossomo.



lado menos polar (**Figura 7-36**); o lado mais polar forma ligações de hidrogênio com a lectina, enquanto o lado menos polar forma interações hidrofóbicas com resíduos de aminoácidos apolares. A soma de todas estas interações produz uma ligação de alta afinidade e garante a alta especificidade das lectinas a seus carboidratos. A interação lectina-carboidrato constitui um modo de transferência de informação que é absolutamente central em muitos processos dentro e entre células. A **Figura 7-37** resume algumas das interações biológicas mediadas pelo código dos açúcares.

RESUMO 7.4 Carboidratos como moléculas informativas: o código dos açúcares

- Os monossacarídeos podem ser organizados em uma variedade quase ilimitada de oligossacarídeos, os quais diferem na estereoquímica e na posição das ligações glicosídicas, no tipo de orientação dos grupos substituintes e no número e no tipo de ramificações. Os glicanos contêm muito mais densidade de informação do que os ácidos nucleicos ou as proteínas.
- As lectinas (proteínas com domínios de ligação a carboidratos com especificidade alta) são comumente encontradas na superfície externa das células, onde iniciam interações com outras células. Em vertebrados, oligossacarídeos marcados “lidos” por lectinas determinam a taxa de degradação de certos hormônios peptídicos, proteínas da circulação e células sanguíneas.
- Patógenos bacterianos e virais, e alguns parasitas eucarióticos, aderem-se às células-alvo animais por meio da

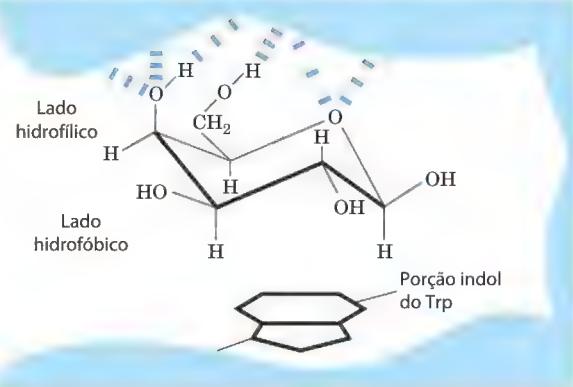


FIGURA 7-36 **Interações hidrofóbicas dos resíduos de açúcar.** Unidades de açúcar, como a galactose, têm um lado mais polar (o topo da cadeira mostrada aqui, com o oxigênio do anel e algumas hidroxila), disponível para a formação de ligações de hidrogênio com a lectina, e um lado menos polar, que pode formar interações hidrofóbicas com cadeias laterais apolares da proteína, como o anel indol de resíduos de Trp.

ligação de lectinas dos patógenos a oligossacarídeos da superfície da célula-alvo.

- A cristalografia por raios X de complexos lectina-açúcar mostra a requintada complementaridade entre as duas moléculas, o que garante a força e a especificidade das interações de lectinas com carboidratos.

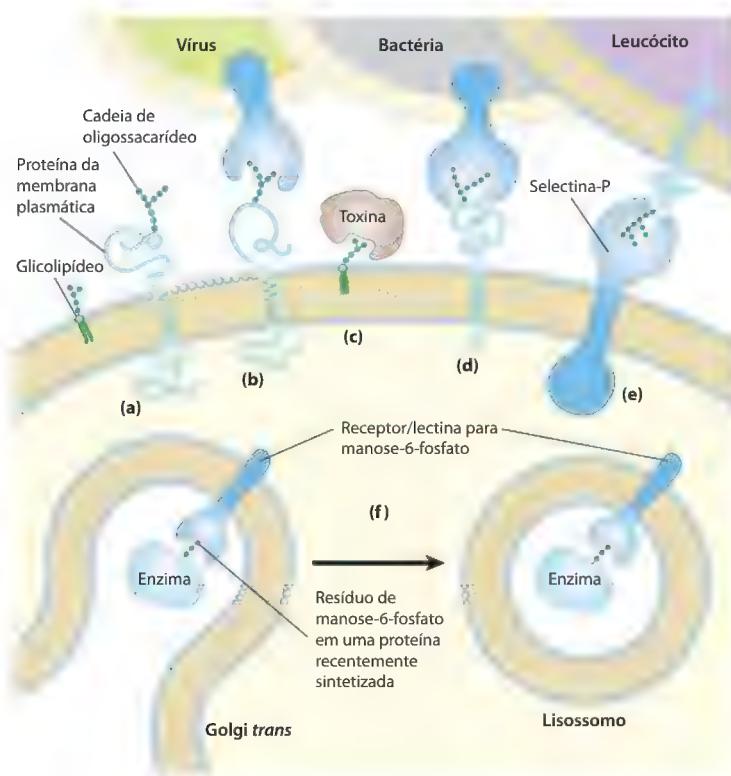


FIGURA 7-37 **Funções dos oligossacarídeos nos eventos de reconhecimento na superfície celular e nos sistemas de endomembranas.** (a) Os oligossacarídeos com estruturas únicas (representados como correntes de hexágonos) são componentes de várias glicoproteínas ou glicolipídeos na superfície externa de membranas plasmáticas. Seus oligossacarídeos se ligam a lectinas do meio extracelular com alta especificidade e alta afinidade. (b) Vírus que infectam células animais, como o influenza, ligam-se a glicoproteínas da superfície celular na primeira etapa da infecção. (c) Toxinas bacterianas, como as do cólera e da coqueluche, ligam-se a um glicolipídeo da superfície antes de entrarem na célula. (d) Algumas bactérias, como a *H. pylori*, aderem-e a células animais e, então, as colonizam ou infectam. (e) Selectinas (lectinas) da membrana plasmática de certas células controlam interações célula-célula, como aquelas dos leucócitos com as células endoteliais da parede capilar em um sítio de infecção. (f) O receptor/lectina para manose-6-fosfato do aparelho de Golgi *trans* se liga ao oligossacarídeo em enzimas lisossômicas, selecionando-as para transferência ao lisossomo.

7.5 Trabalhando com carboidratos

A crescente compreensão da importância da estrutura dos oligossacarídeos no reconhecimento e na sinalização biológicas tem sido a força motriz por trás do desenvolvimento de métodos para a análise da estrutura e da estereoquímica de oligossacarídeos complexos. A análise de oligossacarídeos é complicada, pois, ao contrário de ácidos nucleicos e proteínas, os oligossacarídeos podem ser ramificados e unidos por diferentes ligações. A alta densidade de cargas de muitos oligossacarídeos e polissacarídeos e a relativa instabilidade dos ésteres de sulfato nos glicosaminoglicanos causam ainda mais dificuldades.

Para polímeros simples, lineares, como a amilose, as posições das ligações glicosídicas são determinadas pelo clássico método de metilação exaustiva: o polímero intacto é tratado com iodeto de metil em meio fortemente básico para a conversão de todas as hidroxilas livres a ésteres de metil estáveis em ácido e, em seguida, o polissacarídeo metilado é hidrolisado em ácido. As únicas hidroxilas livres presentes nos monossacarídeos derivados dessa forma serão aquelas participantes das ligações glicosídicas. Para determinar a sequência dos resíduos de monossacarídeos, incluindo quaisquer ramificações que estejam presentes, exoglicosidases com especificidade conhecida são utilizadas para remover um resíduo de cada vez a partir da(s) extremidade(s) não redutora(s). A especificidade destas exoglicosidases muitas vezes possibilita a dedução da posição e da estereoquímica das ligações.

Para a análise das porções oligossacarídicas de glicoproteínas e glicolipídeos, os oligossacarídeos são liberados por enzimas purificadas – glicosidases, que clivam especificamente oligossacarídeos *O*-ligados ou *N*-ligados, ou lipases, que removem grupos da cabeça de lipídeos. Alternativamente, glicanos *O*-ligados podem ser liberados de glicoproteínas pelo tratamento com hidrazina.

As misturas de carboidratos resultantes são separadas em componentes individuais por vários métodos (**Figura 7-38**), incluindo as mesmas técnicas utilizadas para a separação de aminoácidos e proteínas: precipitação fracionada por solventes e cromatografias de troca iônica e exclusão por tamanho (ver Figura 3-17). Lectinas altamente purificadas, unidas por covalência a um suporte insolúvel, são comumente utilizadas em cromatografia por afinidade a carboidrato (ver Figura 3-17c).

A hidrólise de oligossacarídeos e polissacarídeos em ácido forte origina uma mistura de monossacarídeos, os quais podem ser identificados e quantificados por técnicas cromatográficas para obter a composição total do polímero.

Cada vez mais, a análise de oligossacarídeos baseia-se em espectrometria de massa e espectroscopia por RMN de alta resolução. A espectrometria de massa por dessorção e ionização a laser assistida por matriz (MALDI MS, de *matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry*) e a espectrometria de massa em tandem (MS/MS), ambas descritas no Capítulo 3, são facilmente aplicadas a compostos polares, como os oligossacarídeos. A MALDI MS é um método muito sensível para a determinação da massa de um íon molecular (neste caso, a cadeia de oligossacarídeo inteira; **Figura 7-39**). A MS/MS revela a massa do íon molecular e de muitos de seus fragmentos, os

quais geralmente são o resultado da clivagem das ligações glicosídicas. A análise exclusiva por RMN (ver Quadro 4-5), especialmente para oligossacarídeos de tamanho moderado, pode gerar muitas informações sobre sequência, posição de ligações e configuração de carbonos anoméricos. Por exemplo, a estrutura do segmento de heparina mostrado em modelo de volume atômico na Figura 7-22 foi obtida por espectroscopia por RMN. Procedimentos automatizados e instrumentos comerciais são utilizados para a determinação rotineira da estrutura de oligossacarídeos, mas o sequenciamento de oligossacarídeos ramificados unidos por mais de um tipo de ligação permanece uma tarefa muito mais árdua do que a determinação de sequências lineares de proteínas e ácidos nucleicos.

Outra ferramenta importante no trabalho com carboidratos é a síntese química, que tem se mostrado uma abordagem eficaz para a compreensão das funções biológicas de glicosaminoglicanos e oligossacarídeos. A química envolvida nessas sínteses é difícil, mas os químicos de carboidratos agora podem sintetizar segmentos curtos de praticamente qualquer glicosaminoglicano – com estereoquímica, comprimento de cadeia e padrão de sulfatação corretos – e oligossacarídeos significativamente mais complexos do que aqueles mostrados na Figura 7-30. A síntese de oligossacarídeos em fase sólida tem como base os mesmos princípios (e possui as mesmas vantagens) que a síntese de peptídeos (ver Figura 3-32), porém requer um conjunto de ferramentas únicas à química de carboidratos: grupamentos bloqueadores e grupamentos ativadores que permitem a síntese de ligações glicosídicas com o grupo hidroxila correto. Abordagens sintéticas desse tipo representam uma área de grande interesse hoje, já que é trabalhoso purificar oligossacarídeos específicos em quantidades adequadas a partir de fontes naturais.

Microarranjos de oligossacarídeos são utilizados para a identificação de proteínas com afinidade específica por determinados oligossacarídeos. O princípio é o mesmo dos microarranjos de DNA (Figuras 9-22 e 9-23), porém os problemas técnicos são mais desafiadores. Microgotículas de oligossacarídeos puros são aderidas a uma lâmina de vidro, e a lâmina é exposta a uma lectina em potencial (proteína ligadora de glicano) que tenha sido marcada com uma molécula fluorescente (**Figura 7-40**). Após a remoção de toda a proteína não adsorvida, a observação dos microarranjos com um microscópio de fluorescência identifica os oligossacarídeos que a lectina reconheceu, e a quantificação da fluorescência fornece uma estimativa da afinidade entre a lectina e o oligossacarídeo.

RESUMO 7.5 Trabalhando com carboidratos

- O estabelecimento da estrutura completa de oligossacarídeos e polissacarídeos requer a determinação da sequência linear, das posições das ramificações, da configuração de cada unidade de monossacarídeo e das posições das ligações glicosídicas – um problema mais complexo do que a análise de proteínas e ácidos nucleicos.
- As estruturas de oligossacarídeos e polissacarídeos em geral são determinadas por uma combinação de métodos: a hidrólise enzimática específica para determinar



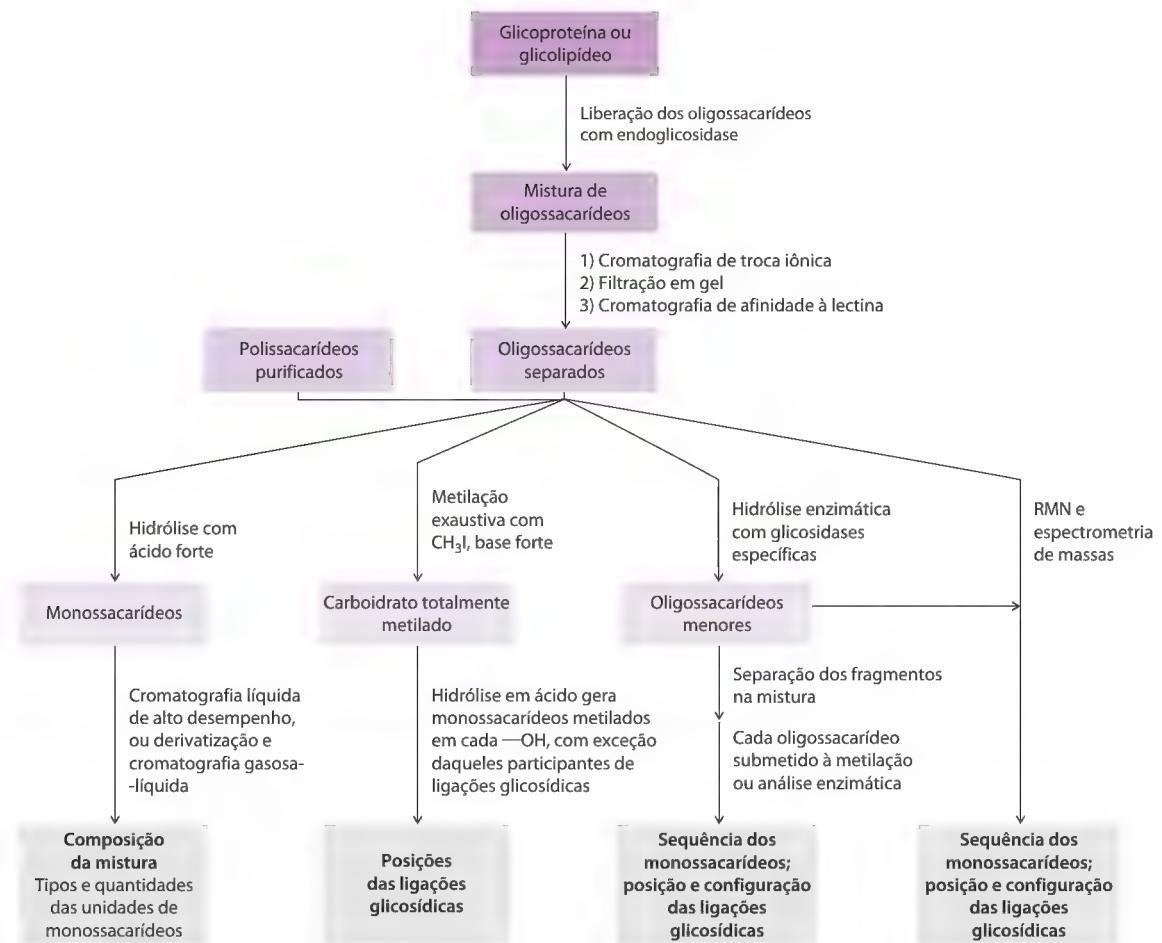


FIGURA 7-38 **Métodos para análise de carboidratos.** Um carboidrato purificado no primeiro estágio da análise frequentemente necessita de todas as quatro rotas analíticas para a caracterização completa.

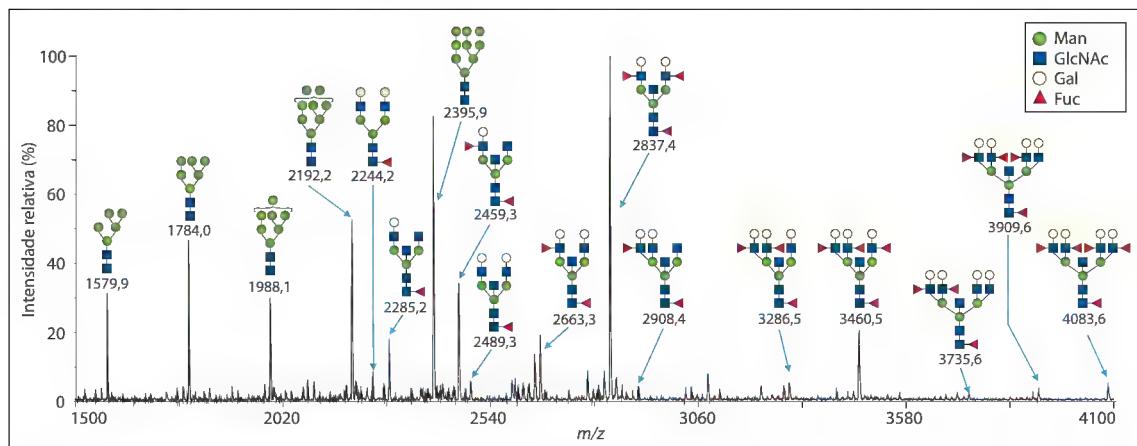


FIGURA 7-39 **Separação e quantificação dos oligossacarídeos em um grupo de glicoproteínas.** Neste experimento, uma mistura de proteínas extraídas de tecido renal foi tratada para a liberação dos oligossacarídeos a partir das glicoproteínas, e os oligossacarídeos foram analisados por espectrometria de massa por dessorção e ionização a laser assistida por matriz

(MALDI MS). Cada oligossacarídeo distinto produz um pico em sua massa molecular, e a área sob a curva reflete a quantidade daquele oligossacarídeo. O oligossacarídeo mais proeminente aqui (massa de 2.837,4 u) é composto por 13 resíduos de açúcar; outros oligossacarídeos, contendo desde apenas 7 resíduos ou até 19 resíduos, também foram resolvidos por este método.



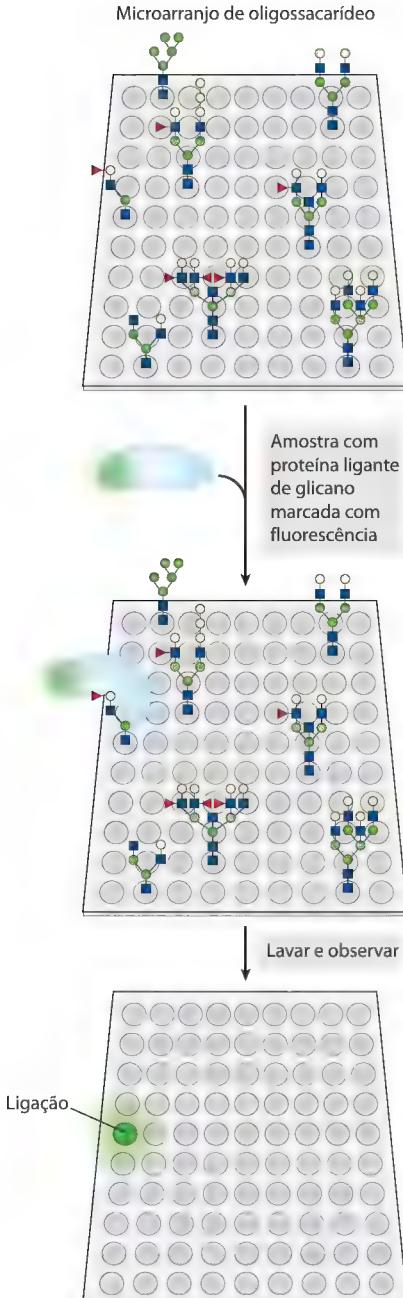


FIGURA 7-40 Microarranjos de oligossacarídeos para determinar a especificidade e a afinidade da ligação de carboidratos por lectinas. Soluções de amostras de oligossacarídeos puros, sintetizados ou isolados da natureza, são colocadas em gotículas microscópicas sobre uma lâmina de vidro e aderidas por meio de um espaçador inerte. Cada ponto representa um oligossacarídeo diferente. A amostra de proteína a ser testada para sua afinidade por oligossacarídeos é primeiramente conjugada a um marcador fluorescente, e, então, a amostra é vertida sobre a lâmina, equilibrada, e qualquer proteína não adsorvida é removida. A observação do microarranjo com um microscópio de fluorescência mostra quais pontos apresentam proteína adsorvida (brilham em verde), e a análise da intensidade de fluorescência permite uma estimativa grosseira da afinidade da ligação proteína-oligossacarídeo.

a estereoquímica da ligação glicosídica e para produzir fragmentos menores para análises adicionais; a metilação para localizar as ligações glicosídicas; e a clivagem gradual para determinar a sequência e a configuração dos carbonos anoméricos.

- A espectrometria de massa e a espectroscopia por RMN de alta resolução, apropriadas para pequenas amostras de carboidrato, geram informações essenciais sobre sequência, configuração dos carbonos anoméricos e outros carbonos e posições das ligações glicosídicas.
- Métodos para síntese em fase sólida produzem oligossacarídeos específicos muito valiosos na exploração das interações lectina-oligossacarídeo e com potencial de se tornar clinicamente úteis.
- Microarranjos de oligossacarídeos puros são úteis para a determinação da especificidade e da afinidade da ligação das lectinas a oligossacarídeos específicos.

Termos-chave

Os termos em negrito estão definidos no glossário.

glicoconjugado 243
carboidrato 243
monossacarídeo 243
oligossacarídeo 243
dissacarídeo 243
polissacarídeo 243
aldose 244
cetose 244
fórmulas de projeção de Fischer 244
epímeros 245
 hemiacetais 245
 hemicetais 245
anômeros 246
carbono anomérico 246
piranose 246
furanose 247
fórmulas em perspectiva de Haworth 247
mutarotação 248
açúcar redutor 251
 glicação da hemoglobina 250
ligações
O-glicosídicas 251

extremidade redutora 252
glicano 253
 amido 255
 glicogênio 255
 celulose 256
matriz extracelular (MEC) 260
glicosaminoglicano 260
ácido hialurônico 260
sulfato de condroitina 261
heparan-sulfato 261
proteoglicano 263
glicoproteína 263
glicoesfingolípideo 264
 sindecano 264
 glipicano 264
glicônica 267
lectina 269
selectinas 270
 microarranjos de oligossacarídeos 274

Leituras adicionais

Geral

Assadi-Porter, F.M., Maillet, E.L., Radek, J.T., Quijada, J., Markley, J.L., & Max, M. (2010) Key amino acid residues involved in multi-point binding interactions between brazzein, a sweet protein, and the T1R2-T1R3 human sweet receptor. *J. Mol. Biol.* **398**, 584–599.

Hayes, J.E. (2007) Transdisciplinary perspectives on sweetness. *Chemosens. Percept.* **1**, 48–57.

Descrição da teoria do sabor doce discutida no Quadro 7-2.

Varki, A., Cummings, R.D., Esko, J.D., Freeze, H.H., Stanley, P., Bertozzi, C.R., Hart, G.W., & Etzler, M.E. (eds). (2009) *Essentials of Glycobiology*, 2nd. edn, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.

Estrutura, biossíntese, metabolismo e função de glicosaminoglicanos, proteoglicanos, glicoproteínas e glicolipídeos, todos apresentados em um nível intermediário e muito bem ilustrado. O livro está disponível gratuitamente *on-line* (www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1908).

Watanabe, H. & Tokuda, G. (2010) Cellulolytic systems in insects. *Annu. Rev. Entomol.* **55**, 609–632.

Glicosaminoglicanos e proteoglicanos

Bishop, J.R., Schuksz, M., & Esko, J.D. (2007) Heparan sulfate proteoglycans fine-tune mammalian physiology. *Nature* **446**, 1030–1037.

Couchman, J.R. (2010) Transmembrane signaling proteoglycans. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **26**, 89–114.

Revisão avançada da função dos proteoglicanos na transdução de sinal em vertebrados.

Fears, C.Y. & Woods, A. (2006) The role of syndecans in disease and wound healing. *Matrix Biol.* **25**, 443–456.

Revisão em nível intermediário.

Frantz, C., Stewart, K.M., & Weaver, V.M. (2010) The extracellular matrix at a glance. *J. Cell Sci.* **123**, 4195–4200.

Resumo em forma de pôster sobre a matriz extracelular.

Kirkpatrick, C.A. & Selleck, S.B. (2007) Heparan sulfate proteoglycans at a glance. *J. Cell Sci.* **120**, 1829–1832.

Resumo em forma de pôster com muitas informações úteis sobre os proteoglicanos.

Manon-Jensen, T., Itoh, Y., & Couchman, J.R. (2010) Proteoglycans in health and disease: the multiple roles of syndecan shedding. *FEBS J.* **277**, 3876–3889.

Roseman, S. (2001) Reflections on glycobiology. *J. Biol. Chem.* **276**, 41,527–41,542.

Ótima revisão sobre a história dos estudos em carboidratos e glicosaminoglicanos, escrita por um dos maiores estudiosos desta área.

Glicoproteínas

Boraston, A. & Mulloy, B. (2010) Structural glycobiology: biosynthesis, recognition events, and new methods. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **20**, 533–535.

Introdução editorial a uma série de excelente revisões publicadas nesta edição sobre estes assuntos.

Luac, G. & Zoldos, V. (2010) Protein glycosylation—an evolutionary crossroad between genes and environment. *Mol. Biol. Syst.* **6**, 2372–2379.

Discussão detalhada sobre os fatores que determinam se e onde uma proteína será glicosilada.

Molinaro, M. (2007) *N*-glycan structure dictates extension of protein folding or onset of disposal. *Nat. Chem. Biol.* **3**, 313–320.

Revisão em nível intermediário sobre a importância da glicosilação de proteínas no complexo de Golgi.

Sharon, N. & Gallagher, J. (2009) *Curr. Opin. Struct. Biol.* **19**, 495–497.

Introdução editorial a uma série de boas revisões sobre glicoproteínas e glicolipídeos publicadas nesta edição da revista.

Weerapana, E. & Imperiali, B. (2006) Asparagine-linked protein glycosylation: from eukaryotic to prokaryotic systems. *Glycobiology* **16**, 91R–101R.

Revisão em nível intermediário sobre o processo biossintético da glicosilação de proteínas.

Glicobiologia e o código dos açúcares

Boraston, A.B., Bolam, D.N., Gilbert, H.J., & Davies, G.J. (2004) Carbohydrate-binding modules: fine-tuning polysaccharide recognition. *Biochem. J.* **382**, 769–781.

Excelente revisão sobre as bases estruturais para a especificidade de proteínas ligantes de açúcar.

Gabius, H.-J., Andre, S., Jimenez-Barbero, J., Romero, A., & Solis, D. (2011) From lectin structure to functional glycomics: principles of the sugar code. *Trends Biochem. Sci.* **36**, 298–313.

Revisão em nível intermediário sobre a base estrutural para o reconhecimento de açúcares pelas lectinas.

Ghosh, P., Dahms, N.M., & Kornfeld, S. (2003) Mannose 6-phosphate receptors: new twists in the tale. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **4**, 202–212.

Hebert, D.N., Garman, S.C., & Molinari, M. (2005) The glycan code of the endoplasmic reticulum: asparagine-linked carbohydrates as protein maturation and quality control tags. *Trends Cell Biol.* **15**, 364–370.

Revisão em nível intermediário.

Helenius, A. & Aeby, M. (2004) Roles of *N*-linked glycans in the endoplasmic reticulum. *Annu. Rev. Biochem.* **73**, 1019–1049.

Lütteke, T., Bohne-Lang, A., Loss, A., Goetz, T., Frank, M., & von der Lieth, C.-W. (2006) Glycosciences.de: an internet portal to support glycomics and glycobiology research. *Glycobiology* **16**, 71R–81R.

McEver, R.P. & Zhu, C. (2010) Rolling cell adhesion. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **26**, 363–396.

Taylor, M.E. & Drickamer, K. (2006) *Introduction to Glycobiology*, 2nd edn, Oxford University Press, Oxford.

Trabalhando com carboidratos

Fukuda, M. (ed.) (2006) *Functional Glycomics*, Methods in Enzymology, Vol. 417, Academic Press, Inc., New York.

Fukuda, M. (ed.) (2006) *Glycobiology*, Methods in Enzymology, Vol. 415, Academic Press, Inc., New York.

Fukuda, M. (ed.) (2006) *Glycomics*, Methods in Enzymology, Vol. 416, Academic Press, Inc., New York.

Jay, A. (1996) The methylation reaction in carbohydrate analysis. *J. Carbohydr. Chem.* **15**, 897–923.

Paulson, J.C., Blixt, O., & Collins, B.E. (2006) Sweet spots in functional glycomics. *Nat. Chem. Biol.* **2**, 238–248.

Revisão em nível intermediário sobre as ferramentas desenvolvidas recentemente em glicobiologia.

Zaia, J. (2008) Mass spectrometry and the emerging field of glycomics. *Chem. Biol.* **15**, 881–892.

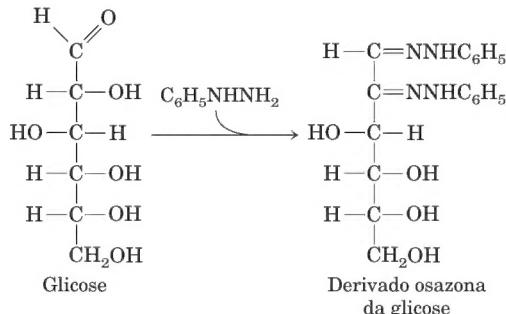
Excelente introdução ao uso de espectrometria de massa para o estudo da estrutura e da função dos glicanos.

Problemas

1. Álcool-açúcares. Nos derivados de monossacarídeos conhecidos como álcool-açúcares, o oxigênio do carbonil está reduzido a um grupo hidroxila. Por exemplo, o D-gliceraldeído pode ser reduzido a glicerol. Entretanto, este açúcar não é mais designado D ou L. Por quê?

2. Reconhecendo epímeros. Usando a Figura 7-3, identifique os epímeros de (a) D-alose, (b) D-gulose e (c) D-ribose em C-2, C-3 e C-4.

3. Pontos de fusão de derivados osazona de monosacarídeos. Muitos carboidratos reagem com fenilidrazina ($C_6H_5\text{NHNH}_2$) para formar derivados cristalinos de cor amarelo-brilhante conhecidos como osazonas:



As temperaturas de fusão desses derivados são facilmente determinadas e são características para cada osazona. Essas informações foram utilizadas para auxiliar na identificação de monossacarídeos antes do desenvolvimento de HPLC ou cromatografia líquida-gasosa. Estão listados abaixo os pontos de fusão (PFs) de alguns derivados aldose-osazona:

Monossacarídeo	PF do monossacarídeo anidro (°C)	PF do derivado osazona (°C)
Glicose	146	205
Manose	132	205
Galactose	165-168	201
Talose	128-130	201

Como a tabela mostra, certos pares de derivados têm os mesmos pontos de fusão, embora os monossacarídeos originais não possuam. Por que glicose e manose, e similarmente galactose e talose, formam derivados osazona com o mesmo ponto de fusão?

4. Configuração e conformação. Quais ligações na α -D-glicose devem ser rompidas para que sua configuração mude para β -D-glicose? Quais ligações convertem D-glicose a D-manoose? Quais ligações convertem uma forma em “cadeira” de D-glicose à outra?

5. Desoxiaçúcares. A D-2-desoxigalactose é a mesma molécula química que a D-2-desoxiglicose? Explique.

6. Estruturas de açúcares. Descreva as características estruturais comuns e as diferenças para cada par: (a) celulose e glicogênio; (b) D-glicose e D-frutose; (c) maltose e sacarose.

7. Açúcares redutores. Desenhe a fórmula estrutural para α -D-glicosil-(1 \rightarrow 6)-D-manosamina e circule a parte dessa estrutura que torna o composto um açúcar redutor.

8. Hemiacetal e ligações glicosídicas. Explique a diferença entre um hemiacetal e um glicosídeo.

9. Gosto de mel. A frutose do mel está principalmente na forma β -D-piranose. Este é um dos carboidratos mais doces que se conhece, em torno de duas vezes mais doce do que a glicose; a forma β -D-furanose da frutose é muito menos doce. A docura do mel gradualmente diminui em altas temperaturas. Também o xarope de milho com alto conteúdo de frutose (produto comercial no qual muito da glicose do xarope de milho é convertido em frutose) é utilizado para adoçar bebidas *frias*, mas não *quentes*. Que propriedade química da frutose poderia ser responsável por essas duas observações?

 **10. A glicose-oxidase na determinação da glicose sanguínea.** A enzima glicose-oxidase isolada do fungo *Penicillium notatum* catalisa a oxidação de β -D-glicose a D-

-glicono- δ -lactona. Essa enzima é altamente específica para o anômero β da glicose e não afeta o anômero α . Apesar dessa especificidade, a reação catalisada pela glicose-oxidase é comumente utilizada em um ensaio clínico para glicose sanguínea total – isto é, para soluções contendo uma mistura de α e β -D-glicose. Quais são as condições necessárias para tornar isso possível? Além de possibilitar a detecção de pequenas quantidades de glicose, que vantagem a glicose-oxidase oferece sobre o reagente de Fehling para a dosagem de glicose sanguínea?

11. A invertase “inverte” a sacarose. A hidrólise da sacarose (rotação específica +66,5°) gera uma mistura equimolar de D-glicose (rotação específica +52,5°) e D-frutose (rotação específica -92°). (Ver no Problema 4 detalhes sobre rotação específica.)

(a) Sugira uma maneira conveniente para determinar a taxa de hidrólise de sacarose por uma preparação de enzima extraída do revestimento do intestino delgado.

(b) Explique por que, na indústria alimentícia, uma mistura equimolar de D-glicose e D-frutose formada pela hidrólise da sacarose é chamada de açúcar invertido.

(c) A enzima invertase (agora geralmente chamada de sacarase) é deixada agir sobre uma solução de 10% (0,1 g/mL) de sacarose até a hidrólise estar completa. Qual será a rotação óptica da solução observada em um tubo de 10 cm? (Ignore a pequena contribuição possível da enzima.)

12. Fabricação de chocolates com recheio líquido. A manufatura de chocolates contendo um centro líquido é uma interessante aplicação da engenharia enzimática. O recheio líquido consiste principalmente em uma solução aquosa de açúcares, rica em frutose para garantir a docura. O dilema técnico é o seguinte: o revestimento de chocolate deve ser preparado vertendo chocolate derretido quente sobre um centro sólido (ou quase sólido), ainda que o produto final deva ter um centro líquido, rico em frutose. Sugira uma maneira para resolver esse problema. (Dica: A sacarose é muito menos solúvel do que uma mistura de glicose e frutose.)

13. Anômeros da sacarose? A lactose existe em duas formas anoméricas, mas nenhuma forma anomérica da sacarose é conhecida. Por quê?

14. Gentiobiose. Gentiobiose (D-Glc[β 1 \rightarrow 6]D-Glc) é um dissacarídeo encontrado em alguns glicosídeos vegetais. Desenhe a estrutura da gentiobiose com base em seu nome abreviado. A gentiobiose é um açúcar redutor? Sofre mutarrotação?

15. Identificação de açúcares redutores. N-acetil- β -D-glicosamina (Figura 7-9) é um açúcar redutor? E D-gliconato? O dissacarídeo GlcN(α 1 \leftrightarrow 1 α)Glc é um açúcar redutor?

16. Digestão da celulose. A celulose poderia ser uma forma de glicose extremamente abundante e barata, porém os seres humanos não conseguem digeri-la. Por quê? Se lhe oferecessem uma maneira que permitisse adquirir esta capacidade, você aceitaria ou não, e por qual motivo?

17. Propriedades físicas da celulose e do glicogênio. A celulose praticamente pura obtida dos fios das sementes de *Gossypium* (algodão) é resistente, fibrosa e completamente insolúvel em água. Em contrapartida, o glicogênio extraído de músculo ou fígado se dispersa prontamente em água quente, formando uma solução turva. Apesar das propriedades físicas marcadamente diferentes, ambas as substâncias são polímeros de D-glicose em ligações (1 \rightarrow 4) com massa molecular comparável. Quais características estruturais desses dois polissacarídeos

geram suas diferentes propriedades físicas? Explique as vantagens biológicas das respectivas propriedades de cada polímero.

18. Dimensões de um polissacarídeo. Compare as dimensões de uma molécula de celulose e uma molécula de amilose, cada uma com M_r de 200.000.

19. Velocidade de crescimento do bambu. Os caules do bambu, gramínea tropical, podem crescer a 0,3 m/dia sob condições ótimas. Dado que os caules são compostos quase que inteiramente por fibras de celulose orientadas no sentido do crescimento, calcule o número de resíduos de açúcar que devem ser enzimaticamente adicionados a cada segundo às cadeias crescentes de celulose para produzir essa velocidade de crescimento. Cada unidade de D-glicose contribui com $\sim 0,5$ nm para o comprimento de uma molécula de celulose.

20. Glicogênio como armazenamento de energia: por quanto tempo uma ave cinegética consegue voar? Desde a antiguidade, tem se observado que certas aves cinegéticas, como o galo silvestre, a codorna e o faisão, são facilmente levadas à fadiga. O historiador grego Xenofonte escreveu, “As abetardas (*Otis tarda*) podem ser capturadas se você for rápido em incitá-las, pois voarão apenas uma curta distância, como perdizes, e em breve se cansarão; e sua carne é deliciosa”. Os músculos de voo das aves cinegéticas dependem quase que inteiramente do uso de glicose-1-fosfato para energia, na forma de ATP (ver Capítulo 14). A glicose-1-fosfato é produzida pela clivagem do glicogênio armazenado no músculo, catalisada pela enzima glicogênio-fosforilase. A taxa de produção de ATP é limitada pela taxa na qual o glicogênio pode ser degradado. Durante um “voo de pátrico”, a taxa de clivagem do glicogênio das aves de caça é bastante alta, cerca de 120 $\mu\text{mol}/\text{min}$ de glicose-1-fosfato produzidos por grama de tecido. Dado que os músculos de voo normalmente contêm aproximadamente 0,35% de glicogênio por peso, calcule por quanto tempo uma ave cinegética pode voar. (Presuma que a massa molecular média de um resíduo de glicose no glicogênio seja de 162 g/mol.)

21. Estabilidade relativa de dois conformeros. Explique por que as duas estruturas mostradas na Figura 7-18b são tão diferentes energeticamente (em estabilidade). Dica: ver Figura 1-22.

22. Volume do sulfato de condroitina em solução. Uma função crucial do sulfato de condroitina é agir como lubrificante em articulações esqueléticas pela criação de um meio gelatinoso elástico e resistente à fricção e ao choque. Essa função parece estar relacionada a uma propriedade peculiar do sulfato de condroitina: o volume ocupado por uma molécula é muito maior em solução do que quando em sólido desidratado. Por que o volume é tão maior em solução?

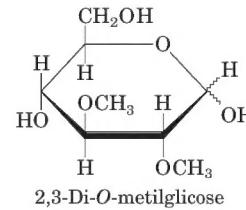
 **23. Interações da heparina.** A heparina, um glicosaminoglicano negativamente carregado, é utilizada como anticoagulante. Ela age pela ligação a algumas proteínas plasmáticas, incluindo antitrombina III, um inibidor da coagulação sanguínea. A ligação 1:1 da heparina à antitrombina III parece causar uma alteração na conformação da proteína que aumenta bastante sua capacidade de inibir a coagulação. Quais resíduos de aminoácidos da antitrombina III provavelmente interagem com a heparina?

24. Permutações de um trissacarídeo. Pense sobre como estimar o número de possíveis trissacarídeos compostos por N-acetilglicosamina-4-sulfato (GlcNAc4S) e ácido glicurônico (GlcA) e desenhe 10 deles.

25. Efeito do ácido siálico sobre eletroforese em gel de poliacrilamida com SDS. Suponha que você tem quatro formas de uma proteína, todas com sequências de aminoácidos idênticas, porém contendo zero, uma, duas ou três cadeias de oligossacarídeos, cada qual terminando com um único resíduo de ácido siálico. Desenhe o padrão que você esperaria em um gel caso uma mistura dessas quatro glicoproteínas fosse resolvida por eletroforese em gel de poliacrilamida com SDS (ver Figura 3-18) e corada para proteínas. Identifique todas as bandas em seu desenho.

26. Conteúdo de informação dos oligossacarídeos. A porção carboidrato de algumas glicoproteínas pode servir como um sítio para o reconhecimento celular. Para desempenhar esta função, os oligossacarídeos devem ter o potencial para existir em uma grande variedade de formas. O que poderia produzir uma maior variedade de estruturas: oligopeptídeos compostos por cinco diferentes resíduos de aminoácidos ou oligossacarídeos compostos por cinco resíduos de monossacarídeos diferentes? Explique.

27. Determinação do conteúdo de ramificações na amilopectina. A quantidade de ramificações (número de ligações glicosídicas ($\alpha 1 \rightarrow 6$)) na amilopectina pode ser determinada pelo seguinte procedimento. Uma amostra de amilopectina é exaustivamente metilada – tratada com um agente metilante (iodeto de metil) que substitui o hidrogênio da hidroxila de cada açúcar por um grupo metil, convertendo $-\text{OH}$ a $-\text{OCH}_3$. Todas as ligações glicosídicas na amostra tratada são, então, hidrolisadas em uma solução aquosa ácida, e a quantidade de 2,3-di-O-metilglicose assim formada é determinada.



(a) Explique o princípio desse procedimento para a determinação do número de pontos de ramificação ($\alpha 1 \rightarrow 6$) na amilopectina. O que acontece com os resíduos de glicose não ramificados da amilopectina durante o processo de metilação e hidrólise?

(b) Uma amostra de 258 mg de amilopectina tratada como descrito acima produziu 12,4 mg de 2,3-di-O-metilglicose. Determine a porcentagem de resíduos de glicose da amilopectina que continha uma ramificação ($\alpha 1 \rightarrow 6$). (Assuma que a massa molecular média de um resíduo de glicose na amilopectina é 162 g/mol.)

28. Análise estrutural de um polissacarídeo. Um polissacarídeo de estrutura desconhecida foi isolado, submetido à metilação exaustiva e hidrolisado. A análise dos produtos mostrou três açúcares metilados: 2,3,4-tri-O-metil-D-glicose, 2,4-di-O-metil-D-glicose e 2,3,4,6-tetra-O-metil-D-glicose, na proporção 20:1:1. Qual é a estrutura do polissacarídeo?

Problema de análise de dados

29. Determinação da estrutura dos抗ígenos do grupo sanguíneo ABO. O sistema ABO dos grupos sanguíneos humanos foi descoberto em 1901, e em 1924 foi mostrado que

esta característica é herdada em um único *locus* gênico com três alelos. Em 1960, W. T. J. Morgan publicou um artigo revisando o que era conhecido sobre a estrutura das moléculas dos抗ígenos ABO naquela época. Quando o artigo foi publicado, as estruturas completas dos抗ígenos A, B e O ainda não eram conhecidas; este artigo é um exemplo da “construção” do conhecimento científico.

Em qualquer tentativa para determinar a estrutura de um composto biológico desconhecido, os pesquisadores devem lidar com dois problemas fundamentais: (1) Se você não sabe o que é, como sabe que está puro? (2) Se você não sabe o que é, como sabe que as condições de extração e purificação não alteraram a estrutura? Morgan examinou o problema (1) por meio de alguns métodos. Um método é descrito em seu artigo (p. 312) como observação de “valores analíticos constantes após testes de solubilização fracionada”. Neste caso, “valores analíticos” são medidas de composição química, ponto de fusão, e assim por diante.

(a) Com base em seu entendimento das técnicas químicas, o que Morgan quis dizer com “testes de solubilização fracionada”?

(b) Por que os valores analíticos obtidos após testes de solubilização fracionada de uma substância *pura* seriam constantes e aqueles de uma substância *impura* não seriam constantes?

Morgan examinou o problema (2) utilizando um ensaio que mede a atividade imune da substância presente em diferentes amostras.

(c) Por que é importante para os estudos de Morgan, e especialmente para examinar o problema (2), que este ensaio de atividade seja quantitativo (dosando o nível de atividade) em vez de simplesmente qualitativo (determinando a presença ou a ausência da substância)?

A estrutura dos抗ígenos do grupo sanguíneo está mostrada na Figura 10-15. Em seu artigo (p. 314), Morgan listou algumas propriedades dos três抗ígenos, A, B e O, que eram conhecidas naquela época:

- O抗ígeno do tipo B tem um conteúdo de galactose maior do que os抗ígenos A ou O.
- O抗ígeno do tipo A contém mais aminoácidos do que os抗ígenos B ou O.
- A razão glicosamina/galactosamina para o抗ígeno A é aproximadamente 1,2, e para o抗ígeno B é cerca de 2,5.

(d) Qual(is) dessas conclusões é(são) consistente(s) com as estruturas conhecidas dos抗ígenos do grupo sanguíneo?

(e) Como você explicaria as discrepâncias entre os resultados de Morgan e as estruturas conhecidas?

Em um trabalho posterior, Morgan e seus colaboradores utilizaram uma inteligente estratégia para adquirir informações

estruturais sobre os抗ígenos do grupo sanguíneo. Havia sido encontradas enzimas que degradariam os抗ígenos especificamente. Entretanto, essas enzimas estavam disponíveis apenas como preparações enzimáticas brutas, possivelmente contendo mais de uma enzima com especificidade desconhecida. A degradação dos抗ígenos do tipo sanguíneo por estas enzimas brutas poderia ser inibida pela adição à reação de moléculas de açúcar específicas. Apenas açúcares encontrados nos抗ígenos do tipo sanguíneo causariam essa inibição. Uma preparação enzimática, isolada do protozoário *Trichomonas foetus*, degradaria todos os três抗ígenos, sendo inibida pela adição de açúcares específicos. Os resultados desses estudos estão resumidos na tabela a seguir, mostrando a porcentagem de substrato que permaneceu inalterada quando a enzima de *T. foetus* agiu sobre os抗ígenos do grupo sanguíneo na presença de açúcares.

Açúcar adicionado	Substrato inalterado (%)		
	Antígeno A	Antígeno B	Antígeno O
Controle – sem açúcar	3	1	1
L-Fucose	3	1	100
D-Fucose	3	1	1
L-Galactose	3	1	3
D-Galactose	6	100	1
N-Acetylglucosamina	3	1	1
N-Acetylgalactosamina	100	6	1

Para o抗ígeno O, a comparação entre os resultados do controle e da L-fucose mostra que a L-fucose inibe a degradação do抗ígeno. Esse é um exemplo de inibição pelo produto, na qual um excesso do produto da reação desloca o equilíbrio da reação, impedindo a adicional hidrólise do substrato.

(f) Embora o抗ígeno O contenha galactose, N-acetylglucosamina e N-acetylgalactosamina, nenhum desses açúcares inibiu a degradação desse抗ígeno. Com base nesse resultado, a preparação enzimática de *T. foetus* é uma endoglicosidase ou uma exoglicosidase? (Endoglicosidases clivam ligações entre resíduos internos; exoglicosidases removem um resíduo de cada vez a partir da extremidade de um polímero.) Explique seu raciocínio.

(g) Quais dos resultados em (f) e (g) são consistentes com as estruturas mostradas na Figura 10-15? Explique seu raciocínio.

Referência

Morgan, W.T.J. (1960) The Croonian Lecture: a contribution to human biochemical genetics; the chemical basis of blood-group specificity. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **151**, 308–347.